Tracts B.347

13

(1)

Sherrington Donation

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
(ANNO CCCXI 1914)
SERIE QUINTA — VOLUME X — FASCICOLO XIII

NUOVE RICERCHE

SUI MUSCOLI STRIATI E LISCI

DI

ANIMALI OMEOTERMI

PRIMA MEMORIA

DEL CORRISP.

FILIPPO BOTTAZZI

ROYAL COLLEGE OF SURGEONS OF ENGLAND
LIBRARY
36

ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1914

Tracts B. 347 (1)

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
(Anno CCCXI 1914)
Serie quinta — Volume X — Fascicolo XIII

NUOVE RICERCHE

SUI MUSCOLI STRIATI E LISCI

DI

ANIMALI OMEOTERMI

PRIMA MEMORIA

DEL CORRISP.

FILIPPO BOTTAZZI

ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1914

Serie 5ª — *Classe di scienze fisiche matematiche e naturali*
Vol. X — *Presentata nella seduta del 4 gennaio 1914.*

CAPO I.

Introduzione generale e scopo delle ricerche.

La massima parte delle ricerche fisiologiche finora fatte su muscoli striati e lisci e su preparati neuro-muscolari separati dal corpo, si riferiscono a muscoli e preparati neuro-muscolari di animali pecilotermi, specialmente di rana o di rospo. Non mancano ricerche su muscoli di animali omeotermi, ma sono ricerche isolate, non sistematiche, e per lo più fatte sui muscoli *in situ*.

Nell'opera del Biedermann (1), che comprende la letteratura su questo argomento fino al 1895, si trova appena qualche accenno ai muscoli degli animali superiori. Ma negli anni seguenti le ricerche su questi muscoli si sono succedute in numero considerevole. I rispettivi lavori saranno, però, da me citati nei singoli capitoli che seguono, limitandomi qui ad accennare solamente ad alcuni pochi fra essi.

Mangold (2) ha studiato l'eccitabilità post-mortale di varii muscoli striati di animali a sangue caldo. Ha trovato che certi muscoli rimangono eccitabili con forti scosse di corrente indotta per 30 ore dopo la morte; che « ein gesetzmässiger Einfluss des früheren oder späteren Eintrittes oder der Lösung der Starre auf die Dauer der Erregbarkeit war nicht zu beobachten »; e che spesso « die Erregbarkeit die vollendete Lösung der Starre um 2-6 Stunden überdauerte »; che nelle sue ricerche « eine Schädigung brachten ..... die heissen Tage durch Beschleunigung der Zersetzungsvorgänge ». L'A. ebbe ad osservare frequentemente, che « vor dem Sinken der Erregbarkeit eine vorübergehende Steigerung stattfindet », tanto che finì per considerare l'aumento della eccitabilità « als Symptom des nahen, völligen Verchwindens der elektrischen Reizbarkeit ». Egli trovò, inoltre, contrariamente alle affermazioni di altri Autori, che l'eccitabilità si conserva benissimo a temperature molto più basse di quella del corpo, e che la più lunga sopravvivenza presentano i muscoli embrionali di cane

(compreso il diaframma), i quali eseguiscono contrazioni lunghe, simili a quelle dei muscoli di animali avvelenati con veratrina, e a quelle di muscoli immersi in soluzione di solo cloruro sodico ([3]). Se la maggior sopravvivenza e più durevole eccitabilità dei muscoli embrionali dipenda dalla maggior ricchezza di essi in sarcoplasma, Mangold non può dire. Diversa è anche la durata della sopravvivenza dei muscoli bianchi e rossi: il m. bulbo-cavernoso, che è un muscolo rosso per eccellenza, è uno degli ultimi a divenire ineccitabile; esso presenta, nel topo, contrazioni cloniche spontanee ancora 10 minuti dopo la morte dell'animale.

Degne di nota sono le ricerche di O. von Fürth e di C. Schwarz ([4]) i quali studiarono sul muscolo gastrocnemio *in situ* del gatto l'azione di varie sostanze tossiche; e quelle di Paukul ([5]) e di Fischer ([6]), che si riferiscono a muscoli di varii mammiferi. Ma siccome questi ultimi Autori studiarono particolarmente le relazioni che passano fra la forma delle contrazioni e il colore e la struttura dei muscoli. il tempo di latenza e altri problemi di fisiologia generale, mi occuperò diffusamente altrove dei risultati da loro ottenuti. Qui ho rammentato questi due lavori, anche perchè contengono l'abbondante letteratura sull'argomento.

Sui muscoli di animali ibernanti (riccio) sono state fatte le recenti ricerche del Gayda ([7]), riguardanti l'influenza della temperatura sulla funzione muscolare. I risultati da lui ottenuti saranno da me esaminati a suo tempo.

Io stesso pubblicai nel 1906 alcune osservazioni sui muscoli oculari (retti) del cane, isolati dal corpo e conservati in una speciale camera-termostato che allora anche descrissi ([8]). I detti muscoli presentano una notevole sopravvivenza e, date le loro piccole dimensioni, approssimativamente eguali a quelle di un gastrocnemio di rana o di rospo, si possono fare su essi ottime ricerche di fisiologia muscolare. Ma le difficoltà che incontrai a preparare il nervo motore corrispondente mi fecero rinunziare a quel preparato che, del resto, è sempre consigliabile, sia per la facilità con cui lo si può allestire, come anche per il fatto, che da uno stesso animale si possono avere più muscoli simili nello stesso tempo. Io volevo avere, però, un preparato neuro-muscolare, perchè lo scopo principale delle mie ricerche era quello di studiare, non solo gli effetti delle stimolazioni direttamente applicate al muscolo, ma anche le proprietà fisiologiche delle giunzioni neuro-muscolari.

E fui abbastanza fortunato di trovarlo nel preparato frenico-diaframmatico di varii mammiferi (cane, gatto, coniglio, feti di cane e di vacca). A questo proposito pubblicai una Nota preliminare nel 1907 ([9]), nella quale descrissi il metodo da me seguito, e riprodussi una fotografia del preparato e alcune curve di contrazione muscolare. Da quell'anno in poi, le ricerche, d'indole diversa, fatte sempre sullo stesso preparato, si sono seguite, nel laboratorio di Fisiologia di Napoli, quasi senza interruzione fino ad oggi. Nell'agosto del 1907, durante una seduta del VII Congresso internazionale dei Fisiologi in Heidelberg, feci una comunicazione, nella quale, dopo avere, col sussidio di proiezioni di diapositive, descritto il metodo da me adottato per registrare le contrazioni provocate da scosse uniche di apertura di corrente indotta, riassunsi brevemente i pochi risultati fino a quel tempo da me ottenuti circa la forma delle dette contrazioni. Naturalmente, le ricerche sul preparato, che chiamai « ideale » nella mia Nota preliminare, e che tale si è confermato in tutti questi anni, non sono

ancora terminate. Ma ho creduto ormai giunto il momento di pubblicare le osservazioni finora fatte e i principali risultati ottenuti, pur senza interrompere gli esperimenti miranti a colmare le lacune che vengo riscontrando durante la redazione di queste Memorie.

***

Lo scopo del mio lavoro non è stato, però, solamente quello di ripetere, sopra un preparato neuro-muscolare di animali omeotermi, che più di ogni altro somigli ai soliti preparati di animali pecilotermi, la ricerche di fisiologia muscolare già fatte da innumerevoli sperimentatori. Tale ripetizione è stata per me solo il mezzo indispensabile per analizzare ed approfondire alcuni problemi di fisiologia generale dei muscoli che finora sembravano essere giunti sopra un binario morto, o di cui era difficile sperar di trovare la soluzione continuando a sperimentare sui classici preparati di rana.

Nella fisiologia generale dei muscoli si son venuti, infatti, formando dei preconcetti, che credo dannoso lasciar sussistere senza critica Uno di questi preconcetti è, che la sola forma normale di contrazione muscolare, in risposta a stimoli unici, sia quella ben nota, e ordinariamente detta *semplice*, dei muscoli di rana. Non è già che non siano state osservate altre forme di curve di contrazione, che presentano due elevazioni nel loro decorso, maggior durata, tratto discendente poco inclinato sull'ascissa ecc.; ma per un frequente processo di eliminazione mentale, esse furono ritenute come abnormi, e fu considerata come sola forma normale la più semplice, quella che ha minor durata e un unico apice acuto, e che presenta i due tratti ascendente e discendente omogenei.

Ora, in primo luogo non è vero, come vedremo a suo tempo, che la forma doppia o bicuspidata di contrazione provocata da uno stimolo unico, cioè quella che è composta di una contrazione rapida o clonica e di una lenta o tonica, sia sempre l'espressione di uno stato abnorme del muscolo o del preparato neuro-muscolare, lasciato *in situ* o separato dal corpo. E, in secondo luogo, ammesso che ciò sia vero, forse per questo cessa o è reso più agevole il còmpito nostro di indagare la genesi del fenomeno della doppia contrazione, o meglio della contrazione tonica che accompagna la contrazione clonica, quando e dovunque il fenomeno si presenta, vale a dire sia in condizioni sperimentali come in casi nettamente patologici (stati di degenerazione, alcune speciali malattie dell'uomo ecc.)?

Nei muscoli, sia striati che lisci, noi dobbiamo distinguere una doppia funzione contrattile: la funzione contrattile tonica (contrazione tonica, tono, contrattura), e la funzione contrattile clonica.

La prima è in atto, in grado debolissimo, nei muscoli striati di ogni animale, in condizioni fisiologiche, e costituisce quello che diciamo *tono* muscolare, che è ritenuto di natura riflessa centrale, essendo determinato e intrattenuto, come si ammette dalla maggioranza dei fisiologi, da una blanda corrente di tenui impulsi nervei afferenti che nei centri si riflette sulle vie nervose efferenti per cui giunge ai muscoli. Un tono molto più accentuato esiste negli organi muscolari lisci; e questo, se in condizioni normali è o può essere di natura riflessa centrale, deve però ammettersi

che possa essere anche di origine periferica, poichè lo si riscontra nettissimo negli organi muscolari lisci separati dai centri nervosi. Si può discutere se questo tono autoctono sia di natura neurogena o miogena; ma certamente può sussistere indipendentemente da ogni azione centrale.

Anche nei preparati neuro-muscolari separati dal corpo, però, si manifestano o possono essere provocati, come vedremo, fenomeni di tono durevole, che non possono essere se non di origine periferica, nel senso che in qualche struttura del preparato neuro-muscolare debbono potersi verificare cangiamenti analoghi a quelli che svolgendosi, come riteniamo, nei centri dànno origine al normale tono muscolare.

La seconda funzione contrattile dei muscoli è quella che vogliam dire *clonica*. Questa si manifesta, in condizioni fisiologiche, sotto forma di *tetano*, cioè costituisce la contrazione tetanica dei muscoli striati, e in condizioni sperimentali, sotto la forma di contrazioni ordinariamente dette *semplici*, provocate da stimoli (elettrici) unici. È noto che i muscoli non compiono quasi mai, normalmente, contrazioni « semplici »; ma di contrazioni semplici è composto ogni tetano, per quanto breve esso sia. L'importanza dello studio di queste contrazioni, sebbene esse costituiscano un fenomeno puramente sperimentale, è stato così universalmente riconosciuta dai fisiologi, che ad esso sono stati dedicati innumerevoli lavori. Infatti questo studio spiana la via alla conoscenza della genesi del tetano, che è la forma normale della funzione dei muscoli striati.

Nei muscoli lisci prevale, è vero, la funzione tonica, ma vi si può fors'anche riconoscere l'occorrenza della funzione contrattile clonica. In condizioni fisiologiche si vede, per es., che il tubo intestinale, non solo presenta un certo tono permanente, ma la sua muscolatura compie anche nello stesso tempo quelle contrazioni pendolari che, in confronto con lo stato tonico durevole, debbono essere considerate, almeno in parte, come contrazioni cloniche. Similmente, le pareti arteriose sono in un certo stato tonico continuo mentre eseguiscono le oscillazioni respiratorie, che sono singole contrazioni, relativamente rapide, della muscolatura arteriosa in risposta ad altrettanti impulsi nervei provenienti dal centro vasomotorio. Queste oscillazioni respiratorie (della curva della pressione del sangue) talora tendono a sovrapporsi, e in parte si sovrappongono, dando origine a « oscillazioni di terzo ordine » ([64]), le quali stanno alle oscillazioni respiratorie (o di secondo ordine) come un tetano incompleto di muscoli striati sta alle contrazioni semplici di questi.

Negli esperimenti su muscoli lisci separati dal corpo, poi, per esempio sul *M. retractor penis* (*), occorre spessissimo di osservare contrazioni piccole o grandi, relativamente rapide e frequenti, e accorciamenti fortissimi, capaci di durare per ore intere. Ora, quelle piccole contrazioni possono verosimilmente, almeno in parte, essere contrazioni cloniche del tessuto muscolare liscio, che, quando si sovrappongono, generano una specie di tetano. Nei muscoli lisci, però, la distinzione fra contrazione semplice e tetano, fra tetano e contrattura ecc., è meno netta, come vedremo a suo luogo, sì che dobbiamo esser molto cauti nel valutare i detti fenomeni, svolgendosi essi nei muscoli lisci in modo più complesso (o almeno, per ora, meno chiaro) che non nei muscoli striati.

(*) Ved. un'altra mia prossima pubblicazione.

Ebbene, stando così le cose, è nostro còmpito di approfondire, più che non sia stato fatto finora, l'importanza che spetta alle due funzioni, tonica e clonica, nella normale attività dei muscoli striati e lisci: di ricercare le traccie della funzione tonica nei muscoli striati, nei quali assai più cospicua è la funzione clonica, e sia nella contrazione provocata da uno stimolo unico, sia nel tetano; e le tracce della funzione clonica nei muscoli lisci, che sono deputati principalmente ad agire tonicamente.

E nostro còmpito indagare qual grado di dipendenza esista fra le due funzioni, con quali mezzi queste possano essere sperimentalmente dissociate, se e come possiamo esaltare l'una e deprimere l'altra, o esaltarle tutt'e due simultaneamente, e in tal caso osservare gli effetti di questa esaltazione, e considerarli in rapporto con la funzione normale dei muscoli.

Finalmente, date le nostre conoscenze sulla inomogeneità morfologica degli elementi muscolari striati e lisci, cioè sapendosi che questi elementi hanno una struttura complessa dobbiamo indagare se sia possibile di localizzare le funzioni contrattili clonica e tonica in componenti morfologici diversi e distinti di ciascuna fibra muscolare striàta o cellula liscia.

A priori, sembra essere assurdo piuttosto il pensare che due funzioni distinte siano eseguite da uno stesso costituente morfologico, che supporre che costituenti diversi dell'elemento muscolare compiano la funzione contrattile tonica e la clonica.

Presentemente, è un dogma che al processo di contrazione partecipino solamente le miofibrille, mentre il sarcoplasma sarebbe privo di proprietà contrattile. A questo preconcetto fa riscontro l'altro, nel campo della neurologia, che la conduttività nervosa dipenda osclusivamente dalle neurofibrille, mentre tutto il neuroplasma, accumulato nelle masse nucleate dei neuroni e interposto alle neurofibrille dei neuriti, non si sa dire ancòra precisamente a che cosa serva: neurofibrille e reti fibrillari, periferiche e centrali, fanno, per ora, secondo una teoria, tutto. Ora, chi abbraccia l'uno o l'altro di questi schemi, dovrebbe, per lo meno, considerare che essi sono indissolubilmente legati allo rispettive teorie vigenti sulla contrazione muscolare e sulla azion nervosa, e che più non avrebbero ragion d'essere il giorno in cui altre teorie venissero a sostituire le prime, altre teorie più soddisfacenti, anche se possono apparire più complicate, perchè non sopprimono arbitrariamente, anzi tengono nel debito conto, dati e fatti risultanti da ricerche sperimentali.

***

Basandomi sopra un grande numero di dati istologici, embriologici, fisiologici e patologici, io formulai nel 1897 ([10]) una teoria, secondo la quale, ammessa la dualità funzionale dei muscoli, la funzione contrattile clonica era localizzata nelle miofibrille, mentre la funzione contrattile tonica era localizzata nel sarcoplasma. I dati e gli argomenti sui quali io fondavo la mia teoria, e i fatti di fisiologia muscolare normale e patologica, rimasti inesplicati, sui quali la teoria gettava nuova luce, non hanno bisogno di essere qui nuovamente rammentati. Chi abbia interesse di conoscerli, può rivolgersi alle mie precedenti pubblicazioni e alla recente monografia di Iotevko ([11]), dove sono ampiamente discussi. Il fenomeno che inspirò la teoria fu quello già de-

scritto dal Fano ([12]) col nome di « oscillazioni del tono » dell'atrio cardiaco nell'*Emys europaea*, e da me riscontrato anche nell'atrio di alcuni anfibii. Io allora supposi che le oscillazioni del tono fossero eseguite dal sarcoplasma delle stesse cellule miocardiache, le cui miofibrille striate eseguivano le sistoli atriali. Tale supposizione, però, incominciò ad apparire meno fondata, anzi mal sicura, il giorno in cui, prima Rosenzweig ([13]), in modo assai superficiale e incompleto, e poco dopo io con C. Ganfini ([14]), in modo esauriente, dimostrammo che la parete dell'atrio di *Emys eur.* è fatta solo in parte di cellule miocardiche striate (*), e in parte è fatta anche di muscolatura liscia, reperto che è stato poi confermato da S. Oinuma ([15]), e recentemente, di nuovo, anche dallo Spadolini ([16]).

Dopo ciò, a me parve ovvio l'ammettere che le oscillazioni del tono fossero dovute alla muscolatura liscia atriale. E ciò io ammisi francamente nel mio lavoro del 1906, basandomi, però, non solamente sulla presenza della detta muscolatura, ma principalmente sul fatto, sperimentalmente da me accertato, che le oscillazioni del tono appariscono tanto più pure, cioè prive di contrazioni sistoliche, quanto meno di parete atriale rimane nel preparato di cui si registrano i movimenti, cioè quanto più il detto preparato è ridotto alle pareti dei grossi vasi formanti il seno venoso, nelle quali pareti il numero delle miocellule striate mano mano diminuisce fino a sparire del tutto; oltre che sugli effetti delle stimolazioni dei nervi del cuore, i quali sono antagonisti [il vago, secondo le osservazioni del Fano ([12], [20]), da me confermate, produce effetto tonotropo positivo; il simpatico, invece, secondo le mie osservazioni ([14]), confermate poi da me stesso mediante l'azione della adrenalina ([14]), e da Oinuma ([15]), produce effetto tonotropo negativo] anche per quanto riguarda la loro influenza sulle oscillazioni del tono.

Comunque sia, la inomogeneità di struttura della parete muscolare rende l'atrio cardiaco dell'*Emys* inadatto per ricerche aventi lo scopo di chiarire l'eventuale localizzazione delle due funzioni contrattili, clonica e tonica, in due componenti strutturali di uno stesso elemento muscolare, poichè in quell'organo esistono due specie di elementi muscolari, in una delle quali è eminentemente sviluppata la funzione tonica, mentre nell'altra è più sviluppata la funzione clonica. Per ciò io, dopo avere dimostrato la presenza di tessuto muscolare liscio in grande quantità nell'atrio del cuore di *Emys*, abbandonai del tutto (dal 1906 in poi; anzi dal 1904, perchè le ricerche pubblicate nel lavoro del 1906 erano state fatte due anni avanti e già comunicate alla R. Accademia medica di Genova nel 1904) questo organo, scrivendo a pag. 179 di quel lavoro: « Le mie ultime ricerche sono state, e le future saranno di preferenza fatte su muscoli o lisci o striati, dai quali si possa sicuramente escludere la presenza di due varietà di elementi contrattili ».

Ora, qui è necessario disperdere un dubbio, che potrebbe insinuarsi nella mente di chi legge.

Altro è la supposizione che le oscillazioni del tono fossero l'espressione della funzione contrattile del sarcoplasma delle cellule atriali striate, altro è la mia teoria

(*) In questo stesso lavoro C. Ganfini ed io descrivemmo e rappresentammo in tavole a colori la fine struttura delle cellule miocardiche striate, prima dello Spadolini ([17]), che non cita le nostre ricerche.

della funzione contrattile del sarcoplasma, in generale, che riguarda tutte le specie di tessuto muscolare: liscio, cardiaco e striato. Se io stesso ho dimostrato infondata quella supposizione, e l'ho abbandonata [recentemente, è stata abbandonata anche dal Fano ([16])], ciò non implica che ne sia rimasta minimamente scossa la « teoria del sarcoplasma », in generale.

Ammettiamo pure che le oscillazioni del tono atriale siano contrazioni ritmiche del tessuto muscolare liscio degli atrii. Ebbene (così correggerei oggi ciò che scrissi nel mio lavoro del 1906, a pag. 177): il tessuto muscolare liscio è costituito in parte di miofibrille e in parte maggiore di sarcoplasma; se non è, dunque, il sarcoplasma delle cellule miocardiche, che eseguisce le contrazioni toniche, sarà il sarcoplasma delle cellule muscolari liscie; ciò non può essere deciso, se non per mezzo di ricerche adeguate.

La teoria della funzione contrattile del sarcoplasma, che già aveva le sue radici nelle ricerche del Kühne ([19]), e a sostegno della quale io già citai alcune considerazioni generali del Biedermann ([1]), fu poi interamente e chiaramente abbracciata dal Fano ([20], [21]), dal Kuliabko ([22]), da Ioteyko ([11]), da Demoor e Philippson ([23], [24]), da Santesson ([25]), da de Boer ([26], [26a]), dall'Ajello ([27]), dal Pansini ([28]) ecc.; tacitamente accettata da G. Weiss ([29]), da Carvallo e Weiss ([30]) etc.; benevolmente accolta, e utilizzata nella interpretazione dei rispettivi risultati sperimentali, da Henze ([31]), da Straub ([32], [32a]), da Mostinsky ([33]), da Pekelharing ([34], [34a]) etc. Altri, finalmente, come Langley (ved. appresso), C. Lhotàk von Lhota (ved. appresso) ecc., dicono di non poter ancòra decidersi a interpretare alcuni fenomeni da loro osservati secondo la « teoria del sarcoplasma », che per altro prendono, non altrimenti che il Biedermann ([35]) ecc., in benevola considerazione.

Infatti, per citare solo alcuni esempii, a pag. 26 del primo lavoro di Demoor e Philippson si legge: « La contraction musculaire est l'expression de la superposition de deux actions, fibrillaire et sarcoplasmatique, plus ou moins indépendantes, dont la première, produite par la substance différenciée, apparait relativement constante, tandis que la seconde, née dans la substance non différenciée, est puissamment modifiée au cours des processus ordinaires de la vie ».

A pag. 13 del secondo lavoro di questi stessi autori si legge poi: « Nos expériences confirment également la théorie de la double nature de la contraction musculaire. Celle-ci serait l'expression de la superposition de deux actions: l'une fibrillaire, rapide et puissante, source de travail balistique; l'autre sarcoplasmique, plus lente, produisant le travail statique ».

A pag. 323 del lavoro di Mostinsky si legge: « Die resultate meiner Untersuchung des Veratrinzustandes stimmen sehr gut zu dieser neuen Arbeitshyphotese » (cioè, con la teoria della contrattilità del sarcoplasma).

A pag. 153-154 del lavoro che il de Boer ([26a]) ha recentemente pubblicato, l'A. così si esprime: « Aus allen diesen Momenten lässt sich, wie ich glaube, ein Argument zugunsten der Lehre Bottazzi's herleiten, der die Kontraktur des veratrinisierten Muskels der langsamen Kontraktion des Sarkoplasmas zuschreibt, die in ihrer Wirkung durch das Veratrin übermässig gesteigert wird. Zur Unterstützung dieser Ansicht lässt sich auch der Umstand anführen, das die Kontraktion der glatten

Muskeln von einer langsamen elektrischen Schwankung begleitet wird, die alle Merkmale der langsamen Schwankung des veratrinisierten Muskels darbietet ».

E più oltre, nella stessa pag. 154, come conclusione generale del lavoro, è detto: « Aus dem Vorhergehenden lässt sich, wie mir scheint, ein Argument herleiten zu gunsten der Hypothese, dass die lagsame Kontraktur des veratrinisierten quergestreiften Muskels einem Vorgang zuzuschreiben ist, der sich in einer Muskelsubstanz abspielt, die von der doppeltbrechenden verschieden ist, in welcher die rasche Kontraktion vor sich geht. Es erscheint sehr wahrscheinlich, dass die Substanz, in der die Kontraktur eintritt, aus dem Muskelsarkoplasma besteht ».

Nello stesso anno, lo stesso de Boer ([26]), riprendendo un'idea già espressa dal Mosso (ved. appresso), ha creduto di dimostrare che « die tonische Innervation der Muskeln aus dem Rückenmark nicht längs den spinalen motorischen Fasern geleitet wird, sondern längs Fasern, die von der Grenzkette des Sympathicus, durch die kommunizierenden Verbindungsäste die gemischten Nerven erreichen ». A riguardo dei muscoli il de Boer poi aggiunge: « in Anbetracht dessen, dass die tonische Innervation und die die rasche Kontraktion veranlassende Innervation verschiedenen Bahnen folgen, wäre man versucht anzunehmen, dass die beiden Vorgänge, Tonus und rasche Kontraktion, ihren Sitz in verschiedenen Stoffen haben und der Ausdruck verschiedener chemischer Processe sind, d. h. dass die raschen Kontraktionen infolge spinalen motorischer Impulse durch rasche Verbrennungen der Kohlehydrate in der anisotropen Substanz erfolgen und dass der Tonus durch das Sarkoplasma auf Kosten des langsamen Verbrauchs der Eiweisstoffe unter der Herrschaft des sympathischem Nervensystem erhalten wird ».

Ciò dicendo, il de Boer si riferisce a ricerche di Pekelharing e van Hoogenhuyze ([34]), i quali, avendo recentemente constatato che, quando i muscoli striati lavorano tonicamente, presentano un ricambio materiale diverso da quando lavorano clonicamente, dando luogo nel primo caso a formazione di maggior quantità di creatina, rilevano che questa dualità di metabolismo può essere messa in relazione con la dualità funzionale dei muscoli, cioè con la mia teoria del sarcoplasma.

Come si vede, parecchie sono le prove sperimentali che si son venute accumulando a sostegno della mia teoria, oltre alle semplici adesioni non suffragate da osservazioni speciali, che io mi astengo anche dal rammentare.

Debbo però aggiungere, che la teoria del sarcoplasma trova vasto campo di applicazione nella patologia (11, 18, 27, 28, 42, 43).

Opinioni contrarie alla mia « teoria del sarcoplasma » sono state espresse, che io sappia, per la stampa da A. Mosso ([36]) e più recentemente da Prenant ([37]).

Per quanto riguarda il primo autore, egli, basandosi sulle osservazioni istologiche di A. Perroncito ([38]), confermate poi ed estese dal Boeke ([39, 39a]), circa l'esistenza, nei muscoli striati, di due specie di terminazioni nervee, l'una in connessione con fibre nervose mieliniche e l'altra con fibre amieliniche verosimilmente di natura simpatica, espresse la supposizione che le fibre mieliniche sieno deputate a provocare le contrazioni rapide, e le amieliniche la contrazione tonica. Il de Boer ([26]) ha fatto qualche esperimento, a questo proposito, e ha creduto di poter dare una conferma fisiologica della supposizione del Mosso. Io credo, però, che altre ricerche siano neces-

sarie a questo riguardo. Comunque sia, il Mosso credette di vedere, nelle già citate osservazioni istologiche, un argomento contro la mia « teoria del sarcoplasma ».

Ma già il Fano ([40]) dimostrò come il Mosso avesse a torto allegata l'autorità del Kölliker a sostegno del suo modo di vedere, e, in generale, come la critica di lui fossa priva di fondamento.

Oltre a ciò, è evidente che l'opinione del Mosso circa la innervazione tonica dei muscoli striati non infirma minimamente la mia teoria, perchè questa riguarda il meccanismo locale con cui si effettua l'accorciamento tonico dei muscoli striati, mentre le osservazioni del Perroncito e del Boeke possono essere messe in relazione solo con l'innervazione muscolare. Tanto ciò è vero, che il de Boer ha creduto di poter benissimo utilizzare quelle osservazioni nel senso della teoria della duplicità funzionale dei muscoli striati, come sopra ho detto.

Infatti, ammesso pure che il tono muscolare dipenda da una innervazione (simpatica) distinta da quella che presiede alla funzione clonica, ciò non impedisce di credere che la funzione tonica sia compiuta dal sarcoplasma delle fibre muscolari.

Il Prenant ([37]) sottopone a una minuta analisi critica la « teoria del sarcoplasma », che in alcuni punti del suo scritto erroneamente mostra di attribuire a Fano e Bottazzi, mentre è noto che essa appartiene a me esclusivamente. Egli, però, non reca prove sperimentali contro di essa. Egli esagera, quando attribuisce a me l'intenzione di dissociare « les fonctions motrices du sarcoplasme et des fibrilles, qui forment certainement dans la fibre musculaire un tout synergique » (pag. 281), mostrando d'ignorare che uno degli espedienti ai quali ricorre il biologo sperimentatore, quando vuole analizzare una funzione complessa, è appunto quello di dissociare i componenti fisiologici del fenomeno, sopprimendone alcuno, esaltandone un altro ecc., senza che per ciò egli pensi mai a una loro indipendenza assoluta o relativa I miei tentativi sono appunto rivolti a ottenere da un muscolo striato, per es., una pura contrazione tonica, senza contrazioni cloniche, in risposta a certi stimoli, o una pura contrazione clonica da un muscolo liscio.

Ora, quando io riuscissi nel mio intento, non ne concluderei certamente che in condizioni fisiologiche la contrazione clonica e la contrazione tonica sono due fenomeni indipendenti; ma solamente questo: che le due funzioni contrattili esistono distintamente, e possono essere sperimentalmente dissociate. Si tratta di dimostrare, però, non solo la dualità funzionale del muscolo, ma anche e soprattutto la mutua dipendenza delle due funzioni contrattili nell'attività normale di esso.

Il Prenant, però, preferisce di spiegare l'innegabile dualità funzionale del muscolo seguendo l'ipotesi di Grützner (ved. appresso), ammettendo cioè « deux lots physiologiques des fibres musculaires, morphologiquement différentes, qui sont contenues dans tout muscle et dans tout complexe musculaire ». Ciò affermando, egli però dimentica che, secondo le ricerche, a lui note, di Carvallo e Weiss ([30]), e di altri, muscoli prevalentemente bianchi e muscoli prevalentemente rossi si comportano, per es. di fronte alla veratrina, come i muscoli misti: presentano cioè egualmente la forma caratteristica della doppia contrazione con contrazione tonica enormemente sviluppata.

Il Prenant, in conclusione, non nega l'importanza che spetta al sarcoplasma nella genesi dei fenomeni tonici, perchè non si può negare che questi sono più cospicui nei

muscoli composti di fibre più ricche di sarcoplasma. Ma le proprietà toniche « ne sont pas — secondo lui — l'effet de la manifestation de la contraction propre du sarcoplasme, dissociée artificiellement de celle de la substance fibrillaire..... On peut dire ..... qu'au sarcoplasme répondent des propriétés déterminées de la fibre musculaire, et que les muscles à sarcoplasme abondant sont aussi ceux chez lesquels ces propriétés sont le plus développées » (pp. 282 e 284).

Ora io dico, specificando, precisamente questo! Le proprietà toniche di un muscolo, si manifestino esse naturalmente o siano comunque provocate, sono dovute al sarcoplasma, in quanto è anch'esso contrattile tonicamente, mentre le proprietà cloniche sono dovute alle miofibrille. Se si nega ciò, si deve ammettere che anche le proprietà toniche, alle quali in ultima istanza si riducono essenzialmente tutte quelle che distinguono un muscolo rosso da un muscolo bianco, spettano alle miofibrille, e che se queste proprietà sono più cospicue nei muscoli a fibre più ricche di sarcoplasma, ciò dipende da un'influenza che il sarcoplasma esercita sulle miofibrille in proporzione della sua quantità. Quale possa essere tale influenza, nessuno, però, sa dire.

Se però si riesce a dimostrare direttamente e sperimentalmente l'esistenza, nei muscoli striati, di una funzione contrattile tonica in condizioni nelle quali le contrazioni cloniche non si modificano o si modificano in ogni senso indipendentemente da essa, allora non si può più riferire la funzione tonica allo stesso materiale cui si riferisce la funzione clonica, nè spiegarla con un'influenza di natura ignota che il sarcoplasma eserciterebbe su quel materiale.

Il Prenant, per altro, non ha tenuto nel debito conto tutti i risultati sperimentali già pubblicati da me e da varii altri autori, risultati che dimostrano appunto quella dissociazione delle due funzioni contrattili, che egli non ha saputo apprezzare. Ma voglio sperare che finirà per accettare completamente la teoria della contrattilità del sarcoplasma quando avrà avuto conoscenza dei risultati delle mie presenti ricerche.

Fatti sperimentalmente accertati, che si possano allegare contro la mia teoria, o che questa non sia in grado di spiegare, io non conosco. Tutta la fisiologia del tessuto muscolare liscio sta a conferma della teoria della contrattilità del sarcoplasma. Infatti, le cellule muscolari lisce sono costituite principalmente di sarcoplasma, il quale visibilmente partecipa alla contrazione. Ma di ciò mi occuperò particolarmente in un altro lavoro.

Similmente non è lecito di dubitare, specialmente dopo le mie recenti ricerche ([41]), che alla contrazione dei muscoli striati embrionali, nei primissimi stadii del loro sviluppo, partecipi il sarcoplasma. In certe malattie ([27, 28]), le curve di contrazione dei muscoli dell'uomo presentano un aspetto tanto somigliante a quello delle curve veratriniche o delle curve di Tiegel (ved. appresso) con contrattura fisiologica, da dover ammettere che in simili casi la funzione contrattile del sarcoplasma si manifesti con insolita evidenza. E finalmente, è noto che i processi degenerativi colpiscono in primo tempo le miofibrille striate ([42–44]), mentre il sarcoplasma si presenta aumentato di volume, forse perchè edematoso: ebbene, anche in queste condizioni, le curve di contrazione presentano un aspetto simile a quello che siamo soliti di riscontrare quando la funzione contrattile tonica è più sviluppata ([44]).

Se, dunque, nel tessuto muscolare liscio e nei muscoli striati embrionali il sarcoplasma (mioplasma) partecipa al processo della contrazione, cioè si contrae, non si comprende perchè dovrebbe aver perduto tale proprietà nei muscoli striati degli animali adulti.

Ma in che maniera esso vi partecipa? Questo è un problema, che riguarda la teoria della contrazione muscolare, di cui mi occuperò in seguito. Una teoria completa della contrazione muscolare deve spiegare, non solamente il processo di contrazione delle miofibrille, ma anche quello del sarcoplasma, perchè l'uno e l'altro processo compongono il processo totale della contrazione delle fibre muscolari, cioè del muscolo striato.

In conclusione, la mia teoria concilia le due opinioni estreme: la più antica di Kühne (loc. cit.), secondo cui ogni fenomeno di contrazione era da attribuirsi al sarcoplasma, mentre le miofibrille erano considerate come strutture elastiche partecipanti solo in modo indiretto a quel fenomeno; e la moderna, secondo cui costituente unicamente contrattile della fibra muscolare sarebbe la miofibrilla striata (nessuno ha pensato mai di formulare una teoria della contrazione dei muscoli lisci, e quindi di vedere se, quanto si afferma a riguardo dei muscoli striati, sia applicabile anche ad essi), mentre al sarcoplasma sono attribuite le più svariate funzioni, come per es. quella di immagazzinare i materiali dinamogeni, di condurre gli eccitamenti per le fibre muscolari ecc., eccetto quella di contrarsi. Le concilia, in quanto che ammette che tutt'e due i costituenti, miofibrille e sarcoplasma, sono dotati di proprietà contrattile, con la differenza che alle prime spettano i fenomeni di contrazione rapida, e al secondo quelli di contrazione lenta e duratura.

***

Il fenomeno del *rigor mortis*, spessissimo, in condizioni sperimentali, segue a un fenomeno di accorciamento tonico fisiologico, e talora si presenta come una continuazione talmente indistinta di esso, da non potersi dire con precisione dove la contrattura fisiologica termini e dove incominci la rigidità cadaverica, che pure si manifesta graficamente con un accorciamento più o meno forte del muscolo. Era necessario quindi che io rivolgessi in modo speciale l'attenzione anche al fenomeno del *rigor mortis*, sia quello che si verifica spontaneamente, sia quello che può essere con varii mezzi provocato sperimentalmente, tanto nei muscoli striati quanto nei lisci.

Riassumerò a suo luogo i risultati delle mie attuali ricerche; e dopo aver discusso quelli degli autori precedenti e le varie ipotesi avanzate per spiegare i fenomeni di rigidità, cercherò di mostrare in che relazione può ammettersi che questi fenomeni stiano con quelli di contrazione e di contrattura fisiologica, quanto alla loro genesi e localizzazione negli elementi contrattili.

***

Nel corso delle mie ricerche, mi sono persuaso della necessità di approfondire lo studio delle proprietà fisiologiche delle giunzioni neuro-muscolari. Le antiche ricerche sull'azione del curaro, dell'atropina ecc., e quelle, più recenti, sull'azione

della adrenalina e di altre sostanze simpatomimetiche, hanno dimostrato che fra le ramificazioni terminali delle fibre nervee efferenti e gli elementi effettori (muscolari, ghiandolari), o meglio là dove si stabilisce il contatto fra quelle ramificazioni e questi elementi, esiste un organo o apparato o, come si voglia dire, una struttura *sui generis*, che può chiamarsi, per quanto riguarda i muscoli « giunzione neuro-muscolare ». Ora, è poco verosimile che la peculiarità di quest'organo consista solamente nel fatto che certe sostanze chimiche esercitano su esso un'azione elettiva. Credo, anzi, che questo fatto debba considerarsi solo come indizio di una molteplicità di caratteri fisiologici peculiari, proprii di quell'organo, onde esso si distingue tanto dalle fibre nervee quanto dalle fibre muscolari, per le quali costituisce un organo di congiunzione dotato di speciali attribuzioni funzionali.

Le « placche motrici » sono molto cospicue nei Rettili e nei Mammiferi, ma mancano affatto, come organi distinti, negli Anfibii. La placca motrice è il terreno dove ha luogo l'arborizzazione terminale delle fibre nervee. Dove essa è molto sviluppata, si presenta come un accumulo di plasma granuloso e nucleato, formante una specie di cuscinetto sporgente sulla superficie della fibra muscolare ma situato sotto il sarcolemma, in cui si ramifica il cilindrasse dopo aver dismesso la guaina di Schwann, che si fonde e continua col sarcolemma, e la guaina mielinica. Verosimilmente, il processo eccitatorio locale, provocato dal turbamento propagatosi per il nervo ([45]), si svolge nel plasma della placca motrice o in qualche costituente ricettore di esso, dal quale si propaga al sarcoplasma interfibrillare e, per esso, alle miofibrille. Probabilmente, il plasma della regione neurale delle fibre striate, cioè quello che forma la placca motrice e che costituisce la giunzione neuro-muscolare, si è differenziato per adattamento funzionale, in guisa da acquistare proprietà eminentemente ricettive, proprietà che da Lucas ([45a]) e da Langley ([45b]) sono state materializzate, sotto l'influenza delle idee di Ehrlich, in *sostanze ricettive* o *radicali ricettori*. Infatti, le regioni neurali dei muscoli sono le più eccitabili, non solo rispetto ai turbamenti propagantisi per i nervi, che sarebbero gli stimoli naturali dei muscoli, ma anche rispetto agli stimoli artificiali, elettrici, meccanici e chimici. Per quanto riguarda particolarmente questi ultimi, è molto probabile che alcune sostanze, appartenenti al gruppo degli elettroliti, agiscano per le proprietà dei loro ioni, e quindi per processi chimico-fisici, mentre altre, per es. alcuni alcaloidi (veratrina, nicotina ecc.), o certi corpi che si formano normalmente nel nostro organismo (ormoni, quali la adrenalina, l'ipofisina ecc.), o derivano da normali metaboliti (quali la β-imidoazoliletilamina che deriva dall'istidina, e la paraossifeniletilamina che deriva dalla tirosina) ecc., agirebbero come stimoli nell'atto in cui formano combinazioni chimiche con costituenti del plasma giunzionale (i *radicali ricettori* di Langley), cioè durante lo svolgimento della corrispondente reazione chimica (reversibile). Quando la reazione ha raggiunto l'equilibrio (se sono reazioni d'equilibrio), o la sua fine, l'azione stimolante cesserebbe; e i fenomeni che il muscolo allora presenta, o sarebbero l'espressione del nuovo stato in cui esso viene a trovarsi per aver partecipato (coi radicali ricettori del suo sarcoplasma) a quella reazione, se la reazione lascia dietro di sè modificazioni persistenti, o corrisponderebbe alle condizioni precedenti la reazione, se questa non lascia nel muscolo modificazioni durevoli. Questo modo di vedere fu da me formulato, appros-

simativamente così, molti anni or sono (1897), e poi è stato espresso essenzialmente nella stessa maniera in questi ultimi anni da Langley.

Secondo Straub ([46]), invece, le sostanze del genere della muscarina ecc. agirebbero mentre passano per la membrana (?) delle cellule muscolari (cardiache), e la loro azione cessa quando il passaggio è compiuto. Ma io ho avuto occasione di criticare ampiamente questa ed altre teorie analoghe, che presuppongono l'esistenza e un uffizio fondamentale di una membrana cellulare ([47]), e però non credo di dover indugiarmi altrimenti sulla teoria dello Straub. Inoltre, non voglio precorrere quanto dovrò dire in seguito; e però torno al proposito delle giunzioni neuro-muscolari.

Il fatto che negli Anfibii non esistono placche motrici morfologicamente distinguibili, non esclude che in essi le regioni neurali dei muscoli posseggano proprietà fisiologiche simili a quelle degli altri animali.

Recentemente, come ho già detto, sono state descritte ([38–39a]), sulle fibre muscolari, terminazioni diverse da quelle sopra accennate, ma sempre ipolemmatiche, di fibre amieliniche sottilissime, onde ciascuna fibra muscolare avrebbe due specie distinte di giunzioni neuromuscolari. Ma circa la funzione di queste altre terminazioni nervose nei muscoli non sappiamo nulla, e però quanto appresso dirò si riferisce alle ordinarie giunzioni neuro-muscolari.

Sulla struttura delle placche motrici e delle giunzioni neuro-muscolari io non m'indugio: veggansi, per quanto vi si riferisce, le opere di Schäfer ([48]) e di Prenant, Bouin e Maillard ([49]). Rammenterò, solamente, che le fibre motrici raggiungono la fibra muscolare durante lo sviluppo, e prendono contatto con la sostanza muscolare, prima che apparisca il sarcolemma [Boeke ([39–39a]); Mays, cit. da Schäfer]; e che, nella degenerazione delle fibre motrici, il plasma e i nuclei della placca terminale non degenerano (Cajal, Tello, cit. da Schäfer, loc. cit., pag. 259).

Il primo accenno a una differenziazione funzionale delle regioni neurali dalle aneurali delle fibre muscolari trovasi nel lavoro di Rollet del 1892 ([50]). Cercando il punto d'origine delle onde di contrazione da lui osservate (ved. in seguito) nelle fibre muscolari degl'Insetti, egli pensò naturalmente ai punti dove la fibra nervea viene a contatto con la fibra muscolare, a quelli che egli chiamò « Innervationsfelder », cioè alle collinette di Doyère, e trovò che effettivamente le onde di contrazione si generano sempre in corrispondenza di una collinetta di Doyère — si sa che negl'Insetti ciascuna fibra muscolare ha più « campi d'innervazione », o giunzioni neuro-muscolari come oggi si direbbe: anche più di dieci in certi casi, contrariamente alle fibre dei vertebrati, che per lo più presentano una sola giunzione (o due, contando quella accessoria descritta da Perroncito e da Boeke — donde si propagano in ambedue le direzioni, ciascuna onda generandone due, come aveva già osservato il Bowman ([51]), e, dopo di lui, l'Aeby ([52]).

Il cercine (« Wulst ») di contrazione che si forma nel detto punto, se non generasse due onde propagantisi in direzione opposta, se cioè rimanesse confinato al punto in cui si genera, sarebbe qualche cosa di somigliante alla « contrazione idiomuscolare » (questa provocata da uno stimolo, quello spontaneo) di M. Schiff ([58]).

Dunque, dice Rollet, la genesi delle onde di contrazione spontanee è in relazione con l'innervazione della fibra muscolare.

Ma sul meccanismo della stimolazione nervea del muscolo, aggiunge egli, non sappiamo nulla. A questo proposito, Du Bois-Reymond ([54]) fu il primo a emettere due ipotesi. « Entweder — disse egli — müsste an der Grenze der contractilen Substanz eine reizende Secretion in Gestalt etwa einer dünnen Schicht von Ammoniak oder Milchsaüre oder einem anderen, den Muskel heftig erregenden Stoffe stattfinden. Oder die Wirkung müsste elektrisch sein ». Oggi sappiamo che in realtà acido lattico si forma nel muscolo, durante l'eccitamento, e si crede che una variazione di concentrazione di ioni, verosimilmente in relazione con la comparsa del detto acido, sia la causa determinante il processo eccitatorio locale.

Comunque sia, la formazione del cercine di contrazione nella collinetta di Doyère è il primo effetto che produce l'impulso nerveo quando raggiunge la fibra muscolare. Quindi l'onda di contrazione si propaga al resto della fibra. L'accorciamento totale della fibra è la somma degli accorciamenti corrispondenti alle singole contrazioni propagantisi a mo' di onde, e l'accorciamento dell'intero muscolo effetto degli accorciamenti delle singole fibre che lo compongono.

Ma le contrazioni naturali dei muscoli striati, così degl'Insetti come dei Vertebrati, sono molto rapide, e le rispettive onde di contrazione molto lunghe, e si propagano con velocità assai maggiore di quella con cui si propagano le onde di contrazione osservate da Bowman, da Aeby e da Rollett nelle fibre dei muscoli degli Insetti separati dal corpo. Come si spiega questa differenza?

Dinanzi a tale difficoltà, Rollett rimase interdetto. E non poteva essere altrimenti. Ma il problema si chiarisce, ammettendo che le onde di contrazione spontanee delle fibre sopravviventi degl'Insetti sono qualche cosa di diverso dalle onde di contrazione dei muscoli striati normali, in generale, e che il muscolo può esser sede di origine e di propagazione di due ordini di onde di contrazione: onde lunghe e veloci nel propagarsi, e onde brevi e lente. Quelle osservate nei muscoli sopravviventi degli Insetti sono onde brevi e lente; quelle corrispondenti alle contrazioni normali, son lunghe e veloci. Le prime sono verosimilmente onde di contrazione sarcoplasmica; le seconde sono onde di contrazione delle miofibrille.

Per quanto riguarda i muscoli lisci, poco di preciso sappiamo circa il modo in cui le fibre nervee amieliniche (postgangliari) si congiungono con le cellule muscolari. L'antica letteratura su questo argomento trovasi raccolta nel recente lavoro di F. B. Hofmann ([55]). Questi ha descritto un « Grundplexus » e un « Endplexus », « dessen einzelne Nervenfädchen längere Strecken ganz dicht an den Muskelzellen, welche die Muskelbündel oder Muskelschichten konstituieren, hinziehe und infolgedessen die Anordnung der Muskulatur sehr genau wiedergeben ». Secondo l'A., non esistono *terminazioni nervee* libere: « die Nervenfasern an die Gegend des Muskelkernes herantreten und dann, *ohne zu endigen*, scheifenförmig umbiegen und von dem innervierten Muskel wieder wegziehen (Chromatophorenmuskeln) ». Le apparenti terminazioni sono prodotti artificiali. In luogo di terminazioni, si hanno *reticoli terminali*, i quali però sono costituiti esclusivamente di fibre più o meno sottili, vale a dire non sono, come affermò Bethe ([56]), reti gangliari, cioè *non contengono cellule nervose periferiche*. Secondo Hofmann, « die Betheschen Ganglienzellen der Nervennetze in der Herz- und Gefässmuskulatur der Wirbeltiere sind

höchst-wahrscheinlich *Kerne von Nervenhüllen,* welche bei manchen Untersuchungsmethoden (in Gold- und manchen Methylenblaupräparaten) mit den vorüberziehenden Nervenfasern zu einer gemeinschaftlichen Masse verschmolzen erscheinen, während man mit anderen Methoden (Methylenblau in gewissen Fällen, insbesondere aber mit der Golgimethode) ganz sicher nachweisen kann, dass die Nervenfasern mit diesen Kernen in keinem Zussammenhang stehen ».

Secondo questa descrizione, dunque, esisterebbe anche nelle cellule muscolari liscie una specie di placche motrici (« Nervenhüllen ») contenenti nuclei, in corrispondenza delle quali si stabilirebbe il contatto delle fibre nervee nude con le cellule muscolari, cioè giunzioni-neuromuscolari, per le quali avverrebbe, forse, la propagazione degli impulsi nervei alla sostanza contrattile.

È impossibile, per ora, decidere la questione, se il protoplasma delle placche motrici, in generale quello che congiunge le fibre nervee con le cellule e fibre muscolari, sia di natura muscolare o nervosa, sia neuroplasma o sarcoplasma. L'essere ipolemmatico, nelle fibre striate, e il continuarsi col sarcoplasma [Boeke ([39])], non dimostra in modo assoluto che esso appartenga interamente all'elemento muscolare. Rammenterò che nello sviluppo embrionale le fibre, ancor nude, procedenti dal tubo neurale primitivo verso i mioblasti, portano alle estremità, con cui avanzano verso la periferia, bottoni o clave terminali di neuroplasma. Ora, nell'ulteriore differenziazione dei cilindrassi, mentre questi si rivestono di guaine, le clave terminali di accrescimento potrebbero, rimanendo nude, anche dopo la comparsa dei sarcolemmi, persistere in forma di neuroplasma indifferenziato, e costituire almeno una parte del materiale granuloso e nucleato della placca motrice, il quale perciò sarebbe di natura in parte nervosa e in parte muscolare. Comunque sia, varii fatti stanno a sostegno della indipendenza trofica e funzionale delle placche motrici e formazioni affini. Nella degenerazione walleriana, sappiamo che degenerano le neurofibrille, non il protoplasma della placca. Inoltre, la specifica ricettività per i veleni rimane anche dopo la degenerazione delle fibre nervose, tanto nei muscoli striati, quanto nei lisci. Ora, alcune sostanze che esercitano azione specifica sui muscoli lisci (adrenalina ecc.), agiscono come la stimolazione delle fibre autonome, per es. simpatiche. Ma se l'azione simpatomimetica perdura dopo la degenerazione delle fibre simpatiche, poichè essa non si esercita sulla sostanza contrattile ma, sì bene, su speciali costituenti ricettori delle giunzioni neuro-muscolari, ne segue che il protoplasma giunzionale è specifico e in certo modo indipendente dall'azione nervosa attuale. Che le reti nervose periferiche appartenenti al sistema autonomo degenerano dopo il taglio dei rispettivi nervi, è stato dimostrato recentemente, per i vasi sanguigni da Eugling ([57]), e per il *M. retractor penis* dal Fletcher ([58]).

Brodie e Dixon ([59]) affermarono (pp. 500-501) (*) che le terminazioni nervee nei

(*) Ecco che cosa intendono, per altro, gli stessi autori per « terminazioni nervee » (loc. cit., pag. 494, nota): « By it we mean the connecting link between the nerve fibre and the muscle fibre. It is not necessarily a constituent part of the muscle fibre nor yet of the nerve fibre. There is planty of evidence in the action of drugs of the existence of such a connecting link. It can only exist where nerve fibre joins on the muscle fibre, but it does not necessarily follow that it should degenerate when the nerve fibre which terminates in it degenerates ».

vasi sanguigni non degenerano, basandosi su esperimenti farmacologici. Ma il conservarsi dell'azione specifica di alcune sostanze dopo il taglio dei nervi vasocostrittori e, in generale, simpatici [Lewandowsky ([60]); Langley ([61])], può spiegarsi, ammettendo che la specificità appartiene al protoplasma delle giunzioni, senza bisogno di ricorrere a un'ipotesi inverosimile, che cioè le terminazioni nervee non degenerano perchè avrebbero un altro centro trofico nella muscolatura, con cui sono fuse. Se il protoplasma delle placche motrici non partecipa alla degenerazione delle fibre e fibrille nervee, e se è esso che contiene i radicali ricettori su cui agiscono le sostanze simpatomimetiche, si comprende benissimo che queste continuano ad esercitare la loro azione specifica anche dopo la degenerazione delle fibre nervose.

Secondo Elliott ([62]), il costituente della giunzione neuro-muscolare che reagisce alla adrenalina appartiene al muscolo ed ha il suo centro trofico nel muscolo. Se, ciò dicendo, egli intende affermare che il detto costituente rimane a far parte della cellula muscolare anche dopo la degenerazione delle fibre nervee, è esatto; ma ciò non implica necessariamente che sia della stessa natura delle sostanze onde sono costituite le strutture contrattili.

Un fatto assai significativo è questo: che gli elementi muscolari sui quali i nervi autonomi non esèrcitano un'influenza dimostrabile, non risentono nemmeno l'influenza delle sostanze simpatomimetiche, pur presentando cospicue placche motrici dotate di proprietà ricettiva per altre sostanze chimiche. Secondo me, dunque, la questione della natura del protoplasma delle placche motrici, o di formazioni affini, non può dirsi peranco risoluta. A tale scopo, sono necessarie altre ricerche, sia morfologiche ed embriologiche, come anche fisiologiche, per es. sul tessuto muscolare di certe spugne, che, secondo Parker ([63]), sarebbe privo di qualsiasi innervazione, come anche sui tessuti muscolari embrionali prima che i loro elementi siano raggiunti dalle fibre nervee, e su plasmi contrattili indifferenziati.

Per tutte le considerazioni fatte sopra, è evidente che le giunzioni neuro-muscolari costituiscono un organo *sui generis*, che merita d'essere preso particolarmente come oggetto di indagini sperimentali.

Io potrei esprimere così il modo in cui si può supporre che si svolgano i fenomeni in un muscolo eccitato per mezzo del suo nervo motore, o direttamente.

Il processo eccitatorio muscolare è provocato dall'impulso nerveo o da altro stimolo esterno, o si genera automaticamente nella sostanza massimamente eccitabile (sostanza β di Lucas) della giunzione neuro-muscolare (placca motrice), e di qui si propaga, in condizioni normali, alla sostanza α di Lucas che provoca la contrazione della fibra muscolare. Se il processo contrattorio rimane confinato al sarcoplasma, si ha una contrazione tonica pura, lenta nel propagarsi (le contrazioni lente dei muscoli d'Insetti separati dal corpo; le contrazioni toniche pure di muscoli di Vertebrati raffreddati o trattati con veratrina, secondo von Lhota; etc.). Se invece, come avviene in condizioni normali, il processo eccitatorio investe anche le miofibrille, si ha la normale contrazione d'ogni muscolo striato.

Se la reazione motoria delle miofibrille è rapida e forte, mentre quella del sarcoplasma è lenta e debole, si ha la contrazione semplice rapida. Se invece la reazione motoria del sarcoplasma è cospicua, questa, in forma di contrazione tonica, si aggiunge

alla contrazione clonica, con cui si manifesta la reazione motoria delle miofibrille, e allora si ha la contrazione doppia.

Secondo Langley, infatti, dovremmo distinguere due sostanze eccitabili (muscolari) α: una, α' (spettante alle miofibrille), che genera il processo contrattorio rapido (delle miofibrille); l'altra, α'' (spettante al sarcoplasma), che genera il processo contrattorio (del sarcoplasma).

In condizioni ordinarie, la sostanza α' è molto più eccitabile della sostanza α''; ma l'eccitabilità di questa può essere sperimentalmente esaltata. Inoltre, abbiamo indizii sufficienti per affermare che l'eccitabilità della sostanza α'' ha caratteri peculiari, diversi da quelli proprii alla sostanza α'.

Molte sono le lacune che possono scoprirsi in questo schema provvisorio del processo eccitatorio svolgentesi negli elementi muscolari; ma le pazienti ricerche che si vengono facendo da molti studiosi, finiranno per colmarle a una a una, e per darci la possibilità di formulare una teoria soddisfacente da sostituire a quello schema.

***

Ho già accennato sopra, che in questi ultimi anni ho limitato le mie ricerche, per quanto riguarda il tessuto muscolare liscio, a un muscolo che può essese preparato privo di ogni altro tessuto estraneo, eccetto il connettivo che fa parte integrale di esso: voglio dire al *M. retractor penis*; e per quanto riguarda il tessuto muscolare striato, al mio preparato neuro-muscolare costituito dal nervo frenico e da una striscia di diaframma.

I vantaggi che offrono questi due preparati, saranno detti appresso. Qui mi basti aggiungere che io così posso fare le mie ricerche su muscoli striati e lisci di animali omeotermi, e non solamente adulti, ma anche di feti, e spesso su preparati di uno stesso animale, che può dare, naturalmente, due preparati frenico-diaframmatici, da utilizzare per esperimenti di confronto, e un muscolo retrattore del pene.

Il preparato frenico-diaframmatico sarà descritto nel capitolo seguente; del muscolo retrattore del pene mi occuperò in una prossima pubblicazione.

***

Per quanto riguarda il metodo, da me seguìto per studiare i problemi che mi sono proposto, è necessario di tener presente che dei fenomeni fondamentali con cui si manifesta lo stato d'eccitamento effettivo dei muscoli — la contrazione propriamente detta o fenomeno meccanico, lo sviluppo di calore e la reazione elettrica — io analizzo particolarmente il primo, cioè mi occupo esclusivamente degli accorciamenti rapidi o lenti, vale a dire delle contrazioni cloniche o toniche, dei muscoli striati o lisci. Per studiare le variazioni di questo fenomeno, dunque, io dovevo scegliere il metodo grafico, cioè la registrazione diretta di esse, a preferenza del metodo elettrico, perchè la registrazione degli elettromiogrammi non mi avrebbe dato che informazioni indirette circa i fenomeni meccanici, e, per quanto riguarda specialmente le contrazioni lente, per giunta informazioni incomplete e assai infedeli. Ciò non ostante, poichè i detti fenomeni fondamentali sono intimamente fra loro connessi, io non ho tralasciato di utilizzare i risultati delle ricerche miotermiche e di quelle fatte nel

campo della elettrofisiologia muscolare, nella interpretazione dei fenomeni da me osservati.

Il metodo che ho seguìto nelle mie svariate ricerche sarà descritto nel cap. III della presente Memoria.

Ora, le contrazioni cloniche e toniche possono essere registrate sia a piccola sia a grande velocità della superficie di registrazione. Quando ho voluto seguire per lungo tempo le variazioni della eccitabilità e del tono, dell'altezza delle singole contrazioni, e i fenomeni di contrattura o di rigidità, spontanee o provocate, ho fatto le registrazioni su cilindri ruotanti a piccola velocità. Quando, invece, ho avuto la intenzione di esplorare particolarmente la forma delle contrazioni singole, il tempo di latenza, i fenomeni di sovrapposizione di due o più contrazioni singole, e quindi il tetano, mi sono servito di cilindri rotanti a grande velocità.

In questa prima pubblicazione mi limito ad esporre i risultati ottenuti registrando i fenomeni di movimento su cilindri ruotanti a piccola (del resto, variabile) velocità, e cioè i risultati di ricerche riguardanti:

1°) il decorso normale della sopravvivenza e della eccitabilità dei preparati frenico-diaframmatici;

2°) le contrazioni ritmiche e rapide, o scosse muscolari, spontanee e provocate, e le spontanee o provocate contratture dei medesimi;

3°) le variazioni dell'altezza delle contrazioni provocate nel preparato diaframmatico in condizioni sperimentali diverse;

4°) i fenomeni di rigidità nel preparato diaframmatico.

In altre prossime pubblicazioni riferirò i risultati delle ricerche che riguardano:

5°) la varia attività funzionale del *m. retractor penis*;

6°) le forma delle contrazioni provocate nel preparato frenico-diaframmatico con stimoli unici di corrente indotta, in condizioni sperimentali diverse; il tempo di latenza etc.;

7°) il fenomeno della fusione e sovrapposizione di due contrazioni provocate a intervalli diversi, sempre relativamente brevi, e il tetano;

8°) la fatica del preparato frenico-diaframmatico etc.

BIBLIOGRAFIA

(1) W. Biedermann, *Elektrophysiologie*. Jena, 1895.

(2) E. Mangold, *Ueber die postmortale Erregbarkeit quergestreifter Warmblütermuskel*. Pflüger's Arch., XCVI, pag. 498, a. 1903.

(3) S. Ringer and D. W. Buxton, *Upon the similarity and dissimilarity of the behaviour of cardiac and skeletal muscle when brought into relation with solutions containing sodium, calcium and potassium salts*. Journ. of physiol., VIII, pag. 288, a. 1887. [Gli autori dicono: « The curve resembles that obtained by the perfusion of veratria in solution ». E ancòra: « Relaxation is very greatly retarded »].

(4) O. von Fürth und C. Schwarz, *Ueber die Steigerung der Leistungsfähigkeit des Warmblütermuskels durch gerinnungsbefördernde Muskelgifte*. Pflüger's Arch., CXXIX, pag. 525, a. 1909.

(5) E. Paukul, *Die Zuckungsformen von Kaninchenmuskeln verschiedener Farbe und Structur*. Arch. f. (Anat. u.) Physiol., pag. 100, a. 1904.

(6) H. Fischer, *Zur Physiologie der quergestreiften Muskeln der Säugethiere*. Pflüger's Arch., CXXV, pag. 541, a. 1908.

(7) T. Gayda, *Influenza della temperatura sulla funzionalità dei muscoli isolati di riccio*. Arch. di fisiol., XI, pag. 1, a. 1912.

(8) F. Bottazzi, *Ein Warmblütermuskelpräparat, das sich für Untersuchungen allgemeiner Muskelphysiologie besonders eignet*. Zeit. f. Biol., XLVIII, pag. 432, a. 1906.

(9) F. Bottazzi, *Ein Warmblüter-Nervenmuskelpräparat*. Zentr. f. Physiol., XXI, n. 6, pag. 171, a. 1907.

(10) F. Bottazzi, *The oscillations of the auricular tonus in the batrachian heart with a theory on the function of sarcoplasma in muscular tissues* (Journ. of physiology, XXI, pag. 1, an. 1897); Idem, *Le oscillazioni del tono atriale negli Anfibii con una teoria sulla funzione del sarcoplasma nei tessuti muscolari* (Il Morgagni, XXXIX, n. 8, a. 1897); Idem, Arch. ital. de biol., XXVI, pag. 380, a. 1896.

(11) I. Ioteyko, *La fonction musculaire*. Paris, 1909.

(12) G. Fano, *Ueber die Tonusschwankungen der Atrien des Herzens von « Emys europaea »*. Beitr. zur Physiol., C. Ludwig gewidmet, pag. 287. Leipzig, 1887.

(13) E. Rosenzweig, *Beiträge zur Kenntnis der Tonusschwankungen des Herzens von « Emys europaea »*. Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1903, suppl. pag. 192.

(14) F. Bottazzi, *Ricerche sulla muscolatura cardiale dell' « Emys europaea »*. Zeit. f. allg. Physiol., VI, pag. 140, a. 1906 (pag. 171: IV, *Ricerche istologiche sull'atrio del cuore di « Emys europaea »*, in collabor. con C. Ganfini, tavv. 9 *a* e 9 *b*).

(15) S. Oinuma, *Beiträge zur Physiologie der autonom innervierten Muskulatur*. III. *Ueber den Einfluss des Vagus und des Sympathicus auf die Tonusschwankungen der Vorhöfe des Schildkrötenherzens*. Pflüger's Arch., CXXXIII, pag. 500, a. 1910.

(16) G. Fano e I. Spadolini, *Sull'elettrocardiogramma durante le oscillazioni del tono negli atrii dell' « Emys europaea »*. Arch. di fisiol., XI, pag. 467, a. 1913.

(17) I. Spadolini, *Sulla fine struttura della fibra miocardica colorata col metodo Bielschowky*. Arch. di fisiol., XI, pag. 434, a. 1913.

(18) G. Quagliariello, *Beiträge zur Muskelphysiologie. — Ueber die Funktion der degenerierten Muskeln*. Zeit. f. Biol., LIX, pag. 469, a. 1913. (Ved. qui la letteratura sull'argomento).

(19) W. Kühne, *Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität*. Leipzig, 1864.

(20) G. Fano, *Sulle cause e sul significato delle oscillazioni del tono atriale nel cuore dell' Emys europaea* (in collab. con F. Badano). Volume dedicato a L. Luciani, pag. 83. Milano, 1900

(21) G. Fano, *Sopra un contributo del sig. Elias Rosenzweig alla conoscenza delle oscillazioni del tono atriale nell' Emys europaea.* Arch. di fisiol., I, pag. 247, a. 1904.

(22) A. Kuliabko, *Ueber die Erscheinung der Tonusschwankungen am isolierten Kaninchenherzen bei Veratrinvergiftung.* Pflüger's Arch., CVII, pag. 238, a. 1905.

(23) J. Demoor et M. Philippson, *Influence de la pression osmotique sur la viscosité du muscle et sur l'allure de la contraction.* Bullet. de l'Acad. royale de Médec. de Belgique. Séance du 30 nov. 1907.

(24) J. Demoor et M. Philippson, *Influence de la pression osmotique sur l'allure de la contraction musculaire* (2me commun.). Bullet. de l'Acad. royale de Médec. de Belgique. Séance du 31 oct. 1908.

(25) C. G. Santesson, *Einiges über die Wirkung des Glycerins und des Veratrins auf die quergestreiften Muskelsubstanz (Frosch).* Skandin. Arch. f. Physiol., XIV. pag. 1, a. 1903.

(26) S. de Boer, *Die quergestreiften Muskeln erhalten ihre tonische Innervation mittels der Verbindungsäste des Sympathicus (thoracales autonomes System).* Folia neurobiolog., VII, pag. 378, a. 1913.

(26 a) S. de Boer, *Ueber das Elektromyogramm der veratrinisierten Muskeln. I Teil· Untersuchungen und Ueberlegungen.* Zeit. f. Biol., LXI, pag. 143, a. 1913.

(27) S. Ajello, *Ricerche sulle proprietà fisiologiche generali dei muscoli nella catatonia.* Catania 1907.

(28) S. Pansini, *Sulla malattia di Thomsen (Myotonia congenita).* Napoli, 1907.

(29) G. Weiss, *Recherches sur les muscles de l'embryon.* Journ. de Physiol. et de Path. génér., I, pag. 665, a. 1899.

(30) J. Carvallo et G. Weiss, *De l'action de la vératrine sur les muscles rouges et blancs du lapin.* Journ. de Physiol. et de Path. génér., I, pag. 1, a. 1899.

(31) M. Henze, *Der chemische Demarcationstrom in toxikologischer Beziehung.* Pflüger's Arch., XCII, pag. 451, a. 1902.

(32) W. Straub, *Zur Muskelphysiologie des Regenwurmes.* Pflüger's Arch., LXXIX, pag. 379, a. 1910.

(32 a) W. Straub, *Fortgesetze Studien am Aplysienherzen* etc. Pflüger's Arch., CIII, pag. 429 a. 1904.

(33) B. Mostinsky, *Die Formgesetze der Veratrinkurve des Froschmuskels.* Arch. f. exper. Path. u. Pharm., LI, pag. 310, a. 1904.

(34) C. A. Pekelharing und C. J. C. van Hoogenhuyze, *Die Bildung des Kreatins im Muskel beim Tonus und bei der Strarre.* Zeit. f. physiol. Chem., LXIV, pag. 262. a. 1910.

(34 a) C. A. Pekelharing, *Die Kreatininausscheidung beim Menschen unter dem Einfluss von Muskeltonus.* Zeit. f. physiol. Chem., LXXV, pag. 207, a. 1911.

(35) W. Biedermann, *Elektrophysiologie.* Ergebn. d. Physiol., I, 2. Abt., pag. 120, a. 1902.

(36) A. Mosso, *Teoria della tonicità muscotare fondata sulla doppia innervazione dei muscoli striati.* Rendic. d. R. Accad. d. Lincei (5), XIII, pag. 174, a. 1904.

(37) A. Prenant, *Problèmes cytologiques généraux soulevés par l'étude des cellules musculaires.* Journ. de l'Anat. et de la Physiol., XLVIII, pag. 278 e segg., a. 1912.

(38) A. Perroncito, *Sulle terminazioni nervose nei muscoli a fibre striate* Gazz. med. ital., LIV, a. 1902 (ved. Arch. ital. de Biol., XXXVIII, pag. 1, a. 1902).

(39) J. Boeke, *Die motorische Endplatte bei den höheren Vertebraten, ihre Entwickelung, Form und Zusammenhang mit der Muskelfaser.* Anat. Anz., XXXV, nn. 8-10, pp. 193-226, a 1909.

(39 a) J. Boeke, *Ueber eine aus marklosen Fasern hervorgehende zweite Art von hypolemmalen Nervenplatten bei den quergestreiften Muskelfasern der Vertebraten.* Anat. Anz., XXXV, nn. 20-22, pp. 481-484, a. 1909.

(40) G. Fano, *Di una nuova teoria del prof. Angelo Mosso sulla tonicità muscolare fondata sulla doppia innervazione dei musculi striati.* Arch. di Fisiol., I, pag. 550, a. 1904.

(41) F. Bottazzi, *Contributi alla fisiologia dei muscoli. La contrazione dei muscoli fetali.* Mélanges biolog. déd. à Ch. Richet, pag. 485. Paris, 1912.

(42) G. Guerrini, *Sulla funzione dei muscoli degenerati.* Lo sperimentale, LIX, pp. 187 e 797, a. 1905; LX, pp. 427, 529 e 621, a. 1906; LXI, pp. 229 e 267, a. 1907.

(43) F. Jamin, *Experimentelle Untersuchungen zur Lehre der Atrophie gelähmter Muskeln.* Jena, 1904.

(44) G. Quagliariello, *Beiträge zur Muskelphysiologie. — Ueber die Funktion der degenerierten Muskeln.* Zeit. f. Biol., LIX, pag. 469, a. 1913.

(45) K. Lucas, *The process of excitation in nerve and muscle.* (*Croon. Lect.*). Proceed. of the Roy. Soc. (B), LXXXV, pag. 495, a. 1912.

(45a) K. Lucas, *The excitable substances of amphibian muscle.* Journ. of Physiol., XXXVI. pag. 113, a. 1907; Idem, *The analisis of complex excitable tissues by their response to electric currents of short duration.* Journ. of Physiol., XXXV, pag. 310, a. 1906-7; Idem, *On the optimal electric stimuli of muscle and nerve.* Journ. of Physiol., XXXV, pag. 103, a. 1906-7; Idem, *On the optimal electric stimuli of normal and curarised muscle.* Journ. of Physiol., XXXIV, pag. 372, a. 1906.

(45b) J. N. Langley, *On the reaction of cells and of nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and curari.* Journ. of Physiol., XXXIII, pag. 374, 1905-6; Idem, Proceed. of the royal Soc. of London (B), LXXVIII, pag. 170, a. 1906; Idem, Arch. intern. de Physiol, V: C. R. du VII me Congr. Intern. de Physiol., pag. 115, a. 1907. (Per gli altri lavori di Langley. ved. i Capitoli seguenti).

(46) W. Straub, *Die Bedeutung de Zellmembran für die Wirkung der chem. Stoffe auf den Organismus.* Verhandl. d. Gesell. deut. Naturf. u. Aerzte, a. 1912.

(47) F. Bottazzi, *Das Cytoplasma und die Körpersäfte. I. Cytoplasma und Zellsäfte.* Winterstein's Handb. d. vergl. Physiol., I. Jena, 1911.

(48) E. A. Schäfer, *Text-book of microscopical anatomy.* London, 1912.

(49) A. Prenant, P. Booin et L. Maillard, *Traité d'Histologie.* Tom. I, 1904; Tom. II, 1911, Paris.

(50) A. Rollett, *Ueber die Contractionswellen und ihre Beziehung zu der Einzelzuckung bei den quergestreiften Muskeln.* Pflüger's Arch., LII, pag. 201, a. 1892.

(51) W. Bowman, *On the minute structure and movements of voluntary muscle.* Philos. Transact. of the royal Soc. of London, P. 2, pag. 457, a. 1840.

(52) C. Aeby, *Untersuchungen über die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Reizung in der quergestreifter Muskelfasern.* Braunschweig, 1862.

(53) M. Schiff, *Lehrbuch der Physiologie des Menschen.* I, pag. 26. Lahr, 1858-59.

(54) E. du Bois-Reymond, *Gesammelte Abhandl.*, II, pag. 698. Leipzig, 1877.

(55) F. B. Hofmann, *Histologische Untersuchungen über die Innervation der glatten und der ihr verwandten Muskulatur der Wirbeltiere und Mollusken.* Arch. f. mikr. Anat., L, pag. 361, a. 1907.

(56) A. Bethe, *Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems.* Leipzig, 1903.

(57) M. Eugling, *Untersuchungen über den peripheren Tonus der Blutgefässe.* Pflüger's Arch., CXXI, pag. 275, a. 1908.

(58) W. M. Fletcher, *Preliminary note on the motor and inhibitor nerve-endings in smooth muscle.* Journ. of Physiol., XXII, pag. XXXVII, a. 1898.

(59) T. G. Brodie and W. E. Dixon, *Contributions to the Physiology of the lungs.* Parte II. *On the innervation of the pulmonary blood vessels* etc. Journ. of Phys., XXX, p. 476 (v. p. 494), a. 1904.

(60) Lewandowsky, *Ueber die Wirkung des Nebennierenextractes auf die glatten Muskeln, im Besonderen des Auges.* Arch. f. (An. und) Physiol., pag. 360, a. 1899.

(61) J. N. Langley, *Observations on the physiological action of extracts of the supra-renal bodies.* Journ. of Physiol., XXVII, pag. 237, a. 1901.

(62) T. R. Elliott, *The action of adrenalin.* Journ. of Phys., XXXII, p. 401 (v. p. 436), a. 1905.

(63) G. H Parker, *The reactions of Sponges, with a consideration of the origin of the nervous system.* Journ. of exp. Zool., VIII, pag. 765, a. 1910.

(64) F. Bottazzi, *Zur Genese der Blutdruckschwankungen dritter Ordnung.* Zeit. f. Biolog., XLVIII, pag. 487, a. 1906.

CAPO II.

Il preparato frenico-diaframmatico.

Le affermazioni dei trattatisti di anatomia ([1]). secondo i quali il muscolo diaframmatico di ciascun lato riceverebbe fibre nervose motrici, oltre che dal n. frenico omolaterale, anche dal frenico del lato opposto e dagli ultimi nervi intercostali, sono inesatte. Similmente, non si può ammettere l'opinione del Pansini ([2]), che cioè il diaframma possegga gangli nervosi proprii, dai quali riceverebbe impulsi motori ritmici. Schwalbe ([3]) descrive un *Ganglion phrenicum* o *diaphragmaticum* sottostante alla metà destra del diaframma, nell'uomo; ma verosimilmente esso appartiene al sistema nervoso autonomo, e non può aver nulla che fare coi movimenti diaframmatici. Secondo Sano ([4]), ciascuna metà del diaframma è innervata da fibre motrici provenienti dallo stesso lato della midolla cervicale, e non riceve fibre crociate. Analogamente si espresse anche il Kohnstamm ([5]). In un lavoro molto accurato e più recente, il Goessnitz ([6]), dopo avere descritto minutamente i varii centri cervicali onde hanno origine le fibre del nervo frenico, in varii mammiferi, dice espressamente: « Motorische Zweige der Intercostalnerven zum Zwerchfelle konnte ich nicht auffinden, wohl aber sensible zum Pleura-Ueberzuge » (pag. 210).

Le ricerche morfologiche sopra citate non lasciano dunque alcun dubbio circa l'innervazione motoria del m. diaframmatico: *essa è unilaterale e assolutamente frenica.*

Per quanto riguarda lo sviluppo embrionale, e quindi la composizione morfologica del m. diaframmatico, pare che questo derivi da due miotomi cervicali, uno dei quali darebbe origine alla porzione sterno-costale, mentre dall'altro deriverebbe la porzione lombare. Tale duplicità genetica del m. diaframmatico di ciascun lato è dimostrata, nell'animale adulto, sia dalla innervazione, essendo la porzione sterno-costale innervata da fibre derivanti principalmente dalla 3ª radice cervicale e la porzione lombare da fibre delle radici 4ª e 5ª, sia anche dal fatto che in ogni animale le due porzioni sono sempre nettamente distinguibili ad occhio nudo.

Basandosi sulle nozioni della embriogenesi e della innervazione centrale del diaframma, c'è davvero da meravigliarsi, col Ramstroem ([7]), come mai si sia potuto anche solo supporre che uno stesso muscolo riceva, contrariamente alle norme generali della innervazione motoria dei muscoli scheletrici, fibre da segmenti spinali tanto lontani fra loro quanto lo sono i cervicali superiori e i toracici inferiori.

Comunque sia, io ho voluto per conto mio convincermi, con ricerche sperimentali, della unilateralità della innervazione esclusivamente frenica del diaframma, e vi sono riuscito in modo abbastanza soddisfacente. Prima di dire come, però, voglio ancòra rammentare che, da una recente voluminosa pubblicazione dello Schiefferdecker ([8]) sulla fine struttura del diaframma di varii mammiferi, risulta evidentemente come

il *m. diaframmatico sia un muscolo rosso per eccellenza*, il che sta perfettamente in armonia con la sua incessante attività periodica.

***

Per mettere in evidenza la distinta innervazione frenica delle due metà simmetriche del diaframma, e dimostrare che i nervi intercostali non partecipano alla innervazione motoria del detto muscolo, io ho fatto due ordini di ricerche sperimentali:

1) In primo luogo, ho stimolato separatamente il nervo frenico destro o sinistro, dopo avere immobilizzato il diaframma, e ne ho diligentemente osservato gli effetti motorii.

2) In secondo luogo, ho indagato gli effetti del taglio di un nervo frenico, lasciando integro l'altro, per quanto riguarda i limiti della degenerazione muscolare che al taglio doveva seguire.

1) Le ricerche fisiologiche furono eseguite nel seguente modo:

Scelti canini piccoli neonati di cane, o anche feti in diverso periodo di sviluppo di vacca, asportai l'intero diaframma insieme coi due frenici, e per mezzo di lunghi spilli lo fissai tutt'intorno su una tavoletta di sughero, tenuta continuamente immersa in liquido di Ringer, debitamente ossigenato e riscaldato alla temperatura di 36°-38° C.

Avendo aspettato che, per la immersione nel detto liquido e per il riscaldamento, l'organo avesse riacquistato la sua eccitabilità, stimolavo con corrente faradica l'uno o l'altro nervo frenico, sollevandolo dal liquido, in cui era immerso, mediante un uncino di vetro e solo per il breve tempo della stimolazione, e osservavo attentamente la contrazione che ne seguiva.

Il diaframma era fissato sulla tavoletta di sughero non solo per tutto il contorno sterno-costo-lombare, ma anche, mediante una fitta serie di spilli, lungo la linea mediana dorso-ventrale, in guisa che le contrazioni di una metà del diaframma stesso non potessero dislocare sensibilmente l'altra metà. In tali condizioni, se durante la stimolazione faradica del nervo frenico destro, per esempio, si osservava contrazione del solo m. diaframmatico destro, e non del sinistro, era evidente che questo non riceveva fibre motorie del frenico destro; e viceversa.

Ora, il resultato costante di tutte le ricerche da me eseguite fu, che *ciascun nervo frenico innerva esclusivamente il muscolo diaframmatico omolaterale*, perchè mai ebbi ad osservare la benchè minima contrazione del m. diaframmatico controlaterale durante la stimolazione, debole o forte che fosse, di ciascuno dei due nervi frenici. La soglia della eccitabilità si dimostrò, nei varii esperimenti, diversa, ma sempre più alta nei feti.

Le osservazioni fatte usando stimolazioni di diversa intensità dimostrarono, inoltre, che quando le stimolazioni erano appena superliminari, il m. diaframmatico di ciascun lato non si contraeva tutto, ma per lo più si contraeva la sola parte sterno-costale; aumentando l'intensità della stimolazione, entrava in contrazione anche la parte lombare, cioè si contraeva tutto il m. diaframmatico. Ciò poteva dipendere da più cause, che qui non è il caso di prendere in speciale considerazione. In un esperimento che feci sul diaframma di un canino neonato, essendo io riuscito a isolare un piccolo pezzo di ciascuno dei tre rami in cui il frenico si divide, stimolando con

stimoli meccanici ciascuno di essi, osservai nettamente la contrazione della sola porzione sterno-costale (anteriore), o della sola porzione costale, o della sola porzione lombare, secondo il ramo che stimolavo.

2) Resultati egualmente netti e costanti ho ottenuto provocando la degenerazione del muscolo diaframmatico di un lato mediante il taglio del nervo frenico corrispondente.

Tre cani di mediocre taglia furono operati asetticamente. Aperta una breccia nel costato a destra, il più in alto che fu possibile, la retrazione del polmone, che seguì allo pneumotorace operatorio, permise di vedere subito il tronco del n. frenico e di isolarlo verso l'alto per un lungo tratto, fin quasi al suo punto d'ingresso nella cavità toracica. Ciò fatto, procedetti all'estirpazione di un pezzo di nervo della lunghezza di 5-6 centimetri: il che è necessario fare, perchè il semplice taglio non può dare la sicurezza che in seguito non avvenga rigenerazione del nervo. Dopo ciò, chiusi la breccia costale, suturando prima i muscoli e poi la pelle. (Dopo tale operazione, a poco a poco venendo riassorbita l'aria penetrata nel cavo pleurico lo pneumotorace guarisce, e l'animale torna a respirare con tutte e due le metà del torace).

Gli animali così operati furono lasciati in vita per un tempo variabile da tre a cinque settimane, eccetto uno che morì pochi giorni dopo l'operazione, in seguito ad ascesso che si formò nella cavità pleurica. Gli altri furono sacrificati quando si giudicò che la degenerazione del muscolo fosse giunta a tal punto da essere riconosciuta a occhio nudo.

Ucciso l'animale, verificai in primo luogo che non era avvenuta rigenerazione del n. frenico tagliato. Il moncone prossimale non fu ritrovato, sperduto com'era nel tessuto cicatriziale circostante. Il moncone distale era anche confuso in mezzo al tessuto cicatriziale; ma da questo punto in giù, fino al diaframma, poteva ancora distinguersi nettamente il tronco nervoso.

Osservato il diaframma dalla faccia toracica, dopo avere estirpato cuore e polmoni, e dalla faccia addominale, dopo avere estirpato il fegato, i reni, la milza e lo stomaco, fui colpito subito da una notevolissima differenza fra il m. diaframmatico destro e il sinistro. Questo presentava il suo ordinario colore rosso vivo e il suo normale spessore; il muscolo diaframmatico destro, invece, era divenuto notevolmente più sottile, a giudicare dalla sensazione tattile che si provava palpandolo fra l'indice e il pollice, in confronto col sinistro, e, ciò che era più rilevante, presentava un colore rosso-giallastro pallido.

In corrispondenza della porzione sternale, si notava distintamente una netta linea di demarcazione separante la metà destra dalla sinistra: linea diritta, coincidente precisamente con la linea mediana del m. diaframmatico. A destra di detta linea il muscolo era di color rosso-giallastro pallido; a sinistra, di color vivo incarnato. Naturalmente, tutta la rimanente porzione laterale del m. sterno-costale e il m. lombare del lato destro avevano lo stesso colore rosso-giallastro pallido, mentre il muscolo sterno-costale e il muscolo lombare di sinistra erano del tutto normali.

Normalmente, sulla regione mediana ventrale del diaframma, nel cane, non si scorge mai alcun indizio di separazione fra il m. diaframmatico destro e il sinistro, tanto intimamente sono queste parti fuse insieme. Ma il processo di degenerazione,

che colpisce solo una metà di esso, mette in evidenza quella linea di separazione, che, di regola, è mascherata dall'eguale direzione dei fasci muscolari e dall'essere questi fittamente insieme connessi.

Ebbene, questa netta separazione del muscolo degenerato dal normale, non si spiega se non ammettendo che, contrariamente ad ogni apparenza, anche nella regione mediana ventrale i fasci muscolari che appartengono al m. diaframmatico di un lato siano distinti da quelli del lato opposto, e che il n. frenico destro innervi esclusivamente le fibre del muscolo di destra e non quelle del muscolo di sinistra.

Il reperto anatomo-patologico è tanto più decisivo, per la regione mediana ventrale, in quanto che è appunto qui che la semplice ispezione del diaframma normale non è sufficiente a far discernere dove terminano i fasci del m. diaframmatico destro e dove cominciano quelli del sinistro; mentre nella regione mediana dorsale, la separazione del muscolo diaframmatico lombare destro dal sinistro può essere riconosciuta a occhio nudo, anche nell'animale normale.

***

Solo dopo lunga esperienza delle cause che abbreviano la sopravvivenza dei preparati neuro-muscolari di animali a sangue caldo, e quindi anche dei modi e mezzi di prevenirle, giunsi ad ottenere preparati frenico-diaframmatici soddisfacenti. Aggiungerò, subito, che la maggior difficoltà consiste nell'ottenerli tali che la conduttività neuro-muscolare rimanga in essi integra per il maggior tempo possibile; là dove poche precauzioni sono necessarie, per far sì che tanto il nervo quanto il muscolo si conservino eccitabili per molte ore. Immergendo il preparato sùbito in liquido di Ringer già un po' tiepido, e poi portandolo gradatamente alla temperatura di 28°-32° C. o più, e facendo gorgogliare per detto liquido l'ossigeno, si può esser sicuri di trovare il muscolo nella sua piena capacità funzionale. Ma lo stesso non può dirsi delle giunzioni neuro-muscolari. Allestendo il preparato frenico-diaframmatico senza speciali, del resto molto semplici, cautele, nel maggior numero dei casi accade che già durante l'allestimento di esso il muscolo entra in contrattura, la quale, generalmente, dopo un tempo variabile si risolve, non sempre completamente; ma allora con stimolazioni del nervo spesso è impossibile provocare contrazioni muscolari: il che dimostra che le giunzioni neuro-muscolari sono già alterate, al punto da bloccare del tutto gli eccitamenti propagantisi per le fibre nervee. Per lo più la striscia di diaframma (ved. appresso) compie violente contrazioni tetaniche o piccole contrazioni fibrillari, mentre la si separa dal resto dell'organo. Spessissimo ancora, nelle dette condizioni, il muscolo eseguisce scosse rapide automatiche, mentre si viene anche tonicamente accorciando, subito o poco dopo da che è stato immerso nel liquido di Ringer. In tutti questi casi, la sopravvivenza delle giunzioni neuro-muscolari, e quindi la conduttività neuro-muscolare, suole essere brevissima: e quando essa si dimostra del tutto abolita, il muscolo può considerarsi, quanto agli effetti delle stimolazioni elettriche indirette, come appartenente ad un preparato di animale curarizzato.

Le cause che tendono a deprimere o ad abolire in brevissimo tempo la conduttività neuro-muscolare sono, secondo la mia esperienza, diverse; ma si può eliminarle, tenendo presenti le seguenti norme.

In primo luogo sono da evitarsi i convellimenti tetanici dell'animale prodotti dall'asfissia, e con essi le violente contrazioni del diaframma. Già l'asfissia lenta è per sè stessa nociva, perchè si sa che le giunzioni neuro-muscolari, assai più dei nervi e dei muscoli, sono sensibilissime alla mancanza dell'ossigeno. Assai nocivi sono ancora i prodotti chimici delle contrazioni tetaniche dei muscoli del corpo causate dalla asfissia, prodotti i quali, formandosi con maggior velocità che non in condizioni normali, e non potendo essere eliminati nè trasformati rapidamente, finiscono per accumularsi nei liquidi dell'organismo in tale quantità da attossicare i tessuti, e in primo luogo le più delicate parti di essi. Nel caso speciale, è indifferente che il diaframma partecipi, o no, all'agitazione generale dell'animale. Anche se, avendo tagliato preventivamente il frenico, il diaframma non può parteciparvi, esso si dimostra pure attossicato; il che è facile ad intendere, essendo i prodotti tossici dell'abnorme attività della muscolatura generale del corpo quelli che, trasportati dal sangue, vanno ad esercitare sulle fibre muscolari del diaframma la loro influenza nociva. La prima ed essenziale condizione, dunque, per ottenere un buon preparato frenico-diaframmatico, è quella di uccidere l'animale in guisa da evitare ogni movimento abnorme prolungato, sia dei muscoli scheletrici, sia del diaframma. Non si deve perciò provocare la morte per dissanguamento, nè per asfissia, o per trafittura del cuore, o per avvelenamento con quasiasi specie di veleno. L'unica morte che ho trovata conveniente per gli animali, generalmente di piccola mole, che io adopero nei miei esperimenti (morte, durante la quale manca ogni contrazione tetanica di durata apprezzabile dei muscoli del corpo, compreso il diaframma, che all'autopsia si trovano in stato di completo rilassamento), è quella, fulminea, per decapitazione, e propriamente prodotta, per le ragioni che appresso dirò, facendo cadere il taglio netto della scure nella più distale parte del collo.

Un'altra condizione essenziale, analoga alla precedente, è che la striscia di diaframma non si contragga durante l'allestimento del preparato. Prima che io adottassi il sistema di uccisione dell'animale per decapitazione, ero obbligato a tagliare, attraverso una breccia aperta nel torace di destra o in quello di sinistra, il nervo frenico quanto più in alto mi fosse possibile, prima di isolare la striscia diaframmatica. Si capisce, infatti, che rimanendo per qualche tempo eccitabili i centri spinali dopo qualunque specie di morte dell'animale, le stimolazioni inerenti all'apertura dell'addome, e specialmente alla resezione della striscia di diaframma, dovevano produrre delle contrazioni muscolari riflesse, talora violente, del diaframma o della striscia muscolare già resecata. Ma da quando cominciai a decapitare gli animali, risparmiai tutto il tempo occorrente per il taglio preventivo del frenico in alto del torace. Infatti, decapitando l'animale nella più distale parte del collo, viene ad essere asportato con la testa anche il tratto di midolla cervicale contenente i nuclei d'origine del nervo frenico, onde ogni possibilità di contrazioni riflesse del diaframma è eliminata.

Come ho detto, la morte istantanea per decapitazione lascia i muscoli in stato di totale rilassamento. È naturale che il violento stimolo meccanico, prodotto dallo schiacciamento e dal taglio della midolla spinale, provochi una contrazione tetanica dei muscoli scheletrici e del diaframma; ma essa è di breve durata, e già da parecchio tempo è del tutto dileguata al momento in cui si incomincia ad allestire il preparato

diaframmatico. Decapitato l'animale, si lascia scorrere liberamente il sangue per i vasi del collo recisi.

La tecnica che io seguo per allestire il mio preparate neuro-muscolare, è la seguente.

Legato l'animale decapitato su una tavola da vivisezione, apro rapidamente un'ampia breccia nel torace, tanto da vedere subito, dopo avere con le dita spostato il polmone retratto, il decorso del frenico destro e sinistro e il punto dove ciascuno di essi s'impianta nella metà corrispondente del diaframma. Quindi allargo ancora la breccia toracica in questa direzione, mettendo a nudo principalmente quella striscia di diaframma che contiene l'inserzione del nervo. Apro anche l'addome, e reseco la parete addominale lungo il margine costale, andando dalla linea mediana verso destra o verso sinistra. Abbasso il fegato e lo stomaco; con una pinza robusta afferro l'arcata costale in un punto che si trovi sulla stessa linea dell'inserzione del frenico sul diaframma, e, mediante una forbice robusta a lunghe branche, con due tagli netti e paralleli estendentisi dall'arcata costale a tutto il centro tendineo, e fatti seguendo la direzione visibilissima dei fasci muscolari, isolo una striscia di diaframma contenente l'inserzione del nervo. Quindi, con una piccola forbice, dopo avere lasciato la porzione muscolare e afferrato con una pinza la porzione tendinea del preparato, al fine di evitare ogni stiramento del nervo, isolo il frenico dal connettivo circostante, seguendolo verso l'apice del torace quanto più è possibile; lo lego in alto con un filo di seta, e lo taglio sopra l'allacciatura. Un piccolo foro fatto nella lamina tendinea della striscia diaframmatica serve per appendere il preparato all'uncino superiore mobile dell'apparecchio scrivente (ved. appresso); per il tessuto connettivo che circonda il pezzo resecato di costola, si fa passare l'uncino inferiore, che immobilizza in basso il preparato.

Messo a posto nella camera-termostato (ved. cap. seguente) il recipiente cilindrico di vetro, in guisa che il preparato occupi in esso una posizione perfettamente centrale e perpendicolare, si fa passare il nervo, tenuto per il filo, rapidamente per i due anellini di platino dell'eccitatore, che è fissato alla parete del detto recipiente cilindrico. Si manda il liquido di Ringer, che già si trovava nella camera-termostato, entro questo recipiente, tanto che ricopra tutto il preparato neuro-muscolare, anche quando il muscolo si trovi allo stato di massimo allungamento; e si fa gorgogliare l'ossigeno.

In pochi minuti il preparato è allestito e messo a posto. Se il muscolo non si è contratto violentemente, nè tonicamente accorciato durante le manovre della preparazione; se il preparato non è esposto a forti variazioni di temperatura (per es., lasciandolo molto raffreddarsi all'aria dopo averlo isolato dal corpo, e poi immergendolo improvvisamente in liquido di Ringer molto caldo, per es. a 37°-38° C.); se esso non ha subìto stiramenti, specialmente in corrispondenza della giunzione del nervo col muscolo: si può essere certi di avere fra le mani un preparato ottimo, dotato di lunga sopravvivenza.

A proposito della temperatura, voglio aggiungere che è estremamente dannoso il riscaldare improvvisamente il preparato dopo averlo lasciato molto raffreddare. Durante la stagione calda, quando la temperatura dell'ambiente sale a 25 o più gradi

centigradi, ogni precauzione è superflua: è allora che si ottengono i migliori preparati. Durante l'inverno, è preferibile di perdere un tempo prezioso a riscaldare lentamente il preparato, piuttosto che immerger questo, già freddo, in liquido di Ringer a 37°-38° C.

***

Il preparato frenico-diaframmatico è rappresentato dalla fig. 1, in cui *M* indica la striscia muscolare, *N* il nervo frenico, *C* il pezzo di costola resecato, *T* un pezzo

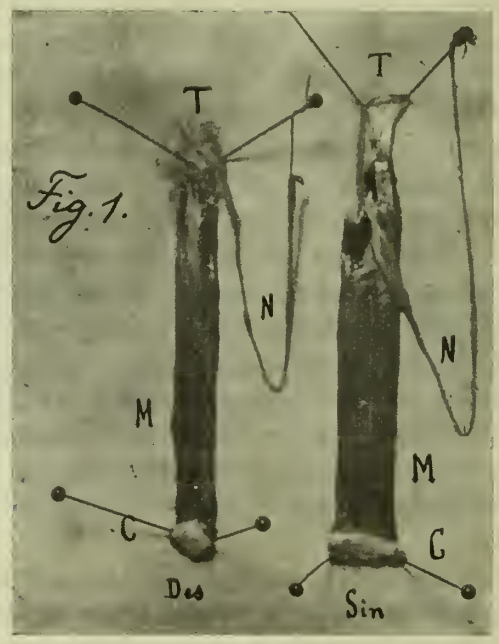


Fig. 1.

di centro tendineo. Dei due preparati della fig. 1, uno è il sinistro (*Sin*), l'altro il destro (*Des*): in questo il nervo s'impianta al limite superiore fra la striscia muscolare e il centro tendineo; in quello penetra direttamente nel muscolo, nel terzo superiore della striscia.

Il preparato frenico-diaframmatico resulta, dunque, della striscia muscolare, del nervo frenico, di un pezzo di costola e di un pezzo di centro tendineo. La porzione muscolare (*M*), che naturalmente è la più lunga, è costituita di fascetti muscolari paralleli, che vanno, senza interruzione, dall'attacco costale (*C*) all'attacco tendineo (*T*), ed hanno uno spessore e una lunghezza più o meno grandi, secondo la mole dell'animale e la grandezza del diaframma. È preferibile di allestire i preparati da piccoli cani (del peso di 3-4 kgr.) o da gatti o da conigli; quelli di grossi cani sono troppo lunghi. Le fibre muscolari hanno certamente la medesima lunghezza di tutta la porzione muscolare del preparato. Naturalmente, i due tagli paralleli, che si fanno per isolare

la striscia, ledono un certo numero di fibre dall'uno e dall'altro lato; ma di là da esse, la striscia diaframmatica può essere considerata come un qualsiasi altro muscolo morfologicamente integro. In altre parole, il muscolo attivo nel mio preparato è costituito dai fasci muscolari integri, le poche fibre muscolari lese formando, ai due margini del preparato, due appendici inerti.

Quando la striscia diaframmatica ha la larghezza di circa un centimetro, i fasci muscolari che la compongono, date le curve che descrive la linea segnante il limite fra la porzione tendinea e la porzione muscolare del diaframma, raramente presentano la stessa lunghezza, pur essendo paralleli. Per avere preparati a fasci di lunghezza press'a poco eguale, è necessario che la striscia resecata sia strettissima: per es., di circa 5 mm.

È evidente che la resezione della striscia diaframmatica ha per conseguenza il taglio di tutti i rami del nervo omolaterale, eccetto quelle poche fibre nervose che dal tronco del frenico passano ad innervare immediatamente i fasci muscolari componenti la striscia resecata. Ma non è facile di ammettere che tutte le fibre muscolari della striscia ricevano le loro fibre nervee da rametti nervosi che, senza deviare dal punto d'impianto del nervo, si portino ai fasci muscolari sottostanti. Al contrario, è verosimile che fibre muscolari del preparato siano innervate da fibre nervose che ad esse giungano dopo aver deviato, magari per breve tratto, lungo rami che si allontanano dal punto di impianto del nervo, e poi vi tornano. Ora, questi rami sono inevitabilmente distrutti dai due tagli isolanti la striscia; e quindi anche le fibre muscolari che ne erano innervate rimangono senza innervazione. Probabilmente, non essendo identico in ogni animale il modo in cui il nervo si ramifica, nè il decorso dei rami più sottili, il numero di fibre muscolari del preparato che rimangono prive d'innervazione non sarà, in ogni caso, lo stesso; ma si deve ammettere che sempre un certo numero di fibre muscolari del preparato rimanga escluso dalla possibilità di ricevere impulsi nervei. È difficile dire quanto questo possa influire nel determinare le differenze da me osservate fra le contrazioni provocate da stimoli indiretti e quelle prodotte da stimoli diretti.

Come dirò a suo luogo, la sopravvivenza del preparato muscolare è assai lunga: si può sperimentare su esso una giornata intera, come su un muscolo di rana, senza che esso perda la sua eccitabilità. (Parlo del muscolo, perchè la sopravvivenza delle giunzioni neuro-muscolari è generalmente assai minore). Io credo che sì lunga sopravvivenza sia dovuta, principalmente, alla grande superficie che la striscia muscolare presenta rispetto alla sua massa. Avendo il preparato un piccolo spessore (circa 1-2 mm.) e una grande superficie, lo scambio gassoso, condizione essenziale della sopravvivenza, con il liquido di Ringer in cui è immerso, si fa assai meglio che non in un muscolo come il gastrocnemio, per es., che presenta una superficie minore relativamente alla sua massa. Poichè nel preparato privo di circolazione tutti gli scambî debbono avvenire per la sua superficie, è evidente che la condizione peculiare in cui si trova il mio preparato diaframmatico è sommamente vantaggiosa.

BIBLIOGRAFIA

(1) L. Testut, *Trattato di anatomia umana* (traduzione italiana. Torino, 1900): vol. I, Miologia, pagg. 226-227; vol. II, parte 3ª, pag. 143. — C. Gegenbaur, *Lehrbuch der Anatomie des Menschen*, 4te Aufl., I, pag. 394, Leipzig 1890.

(2) S. Pansini, *Del plesso e dei gangli proprii del diaframma.* Bollett. d. Soc. d. natural. in Napoli (1) II, pag. 114, a. 1888.

(3) G. Schwalbe, *Lehrbuch der Neurologie*, pagg. 909-911. Erlangen, 1881.

(4) Fr. Sano, *Nucleus diaphragmae: étude sur l'origine réelle du nerf diaphragmatique.* Journ. de Médec. de Bruxelles, n. 42, 20 octobre 1898 (estratto).

(5) O. Kohnstamm, *Zur Anatomie und Physiologie des Phrenicuskernes.* Fortschr. d. Medic., XVI, n. 17, pag. 643, a. 1898.

(6) W. von Goessnitz, *Beitrag zur Diaphragma-Frage*, Semon's Zoolg. Forschungsreise in Australien und d. malaysch. Archipel, IV, pag. 205, Jena 1901.

(7) M. Ramstroem, *Untersuchungen über die Nerven des Diaphragma.* Anat. Hefte, XXX, Heft 92, pag. 671, a. 1906.

(8) P. Schiefferdecker, *Untersuchungen über den feineren Bau und die Kernverhältnisse des Zwerchfelles in Beziehung zu seiner Funktion, sowie über das Bindegewebe der Muskeln* (Pflüger's Arch., CXXXIX, pag. 337, a. 1911). — Idem., *Muskeln und Muskelkerne*, Leipzig 1909.

CAPO III.

La tecnica sperimentale adottata.

Questo capitolo comprende:

1) La descrizione e le principali indicazioni riguardanti l'uso della mia camera-termostato, per ricerche sopra tessuti sopravviventi di animali omeotermi, e dei recipienti in essa contenuti, destinati a ricevere la soluzione fisiologica ossigenata e, nel caso particolare, il preparato neuro-muscolare.

2) La descrizione del chimografo, con le modificazioni e aggiunte ad esso da me fatte: *a*) per poter registrare ininterrottamente serie di curve di contrazioni sovrapposte; *b*) per far sì che le leve scriventi si avvicinino e prendano contatto con la superficie di registrazione solo durante il tempo della contrazione e qualche istante prima; *c*) per ottenere la chiusura e apertura automatica della corrente elettrica stimolante, e la soppressione dello stimolo di chiusura della corrente indotta.

3) La descrizione del dispositivo per la stimolazione del nervo o del muscolo del preparato frenico-diaframmatico, e, quando nella camera si trovano due simili preparati, dell'uno o dell'altro di essi separatamente e a volontà, così con corrente indotta come con corrente continua, sia nella disposizione verticale come nella orizzontale del muscolo.

1. *Descrizione della camera-termostato.*

La costruzione di questa camera-termostato rimonta per quanto riguarda il primo modello, al 1906 [1]. Il secondo modello, perfezionato, è rappresentato dalle figg. 2 e 3, mentre nella fig. 4 è disegnato uno schema generale contenente, oltre alla camera, tutti gli altri apparecchi usati nei miei esperimenti.

La camera-termostato, nel suo ultimo modello, è una camera di rame rettangolare, alta 27 cm., i cui lati misurano rispettivamente 27 e 18 cm. Delle sue 6 pareti, l'inferiore, la superiore e le due laterali (la camera è guardata dal davanti nella fig. 3, di sbieco nella fig. 2) sono doppie, e la distanza fra le due lastre di ciascuna parete è di 4 cm. Le pareti anteriore e posteriore sono di cristallo; l'anteriore è mobile. La parete superiore presenta verso il margine sinistro (fig. 3) due fori, che immettono nello spazio chiuso fra le due lastre della parete corrispondente. Pel foro posteriore passa un termoregolatore a toluolo di Ostwald (*T*), che è connesso da una parte con la conduttura del gas, dall'altra con una microlampada, situata sotto la camera. Pel foro anteriore, che serve anche a riempire d'acqua lo spazio sopradetto, passa un ordinario termometro diviso in decimi di grado. Termoregolatore e termometro pescano, dunque, nell'acqua contenuta nella doppia parete. Tre tubi metallici attraversano la doppia parete superiore in tutto il suo spessore, e si sporgono per

circa 1 cm. all'interno della camera. Uno è destinato al passaggio di un termometro (t'', fig. 3); gli altri due, simmetrici (1, 2), sono rivestiti internamente di ebanite, e quattro dischi, pure di ebanite, ne rivestono le parti sporgenti.

Così, la camera ha due aperture di comunicazione coll'esterno, che però sono perfettamente isolate dalla massa metallica. Ciascuno di questi passaggi isolati, del diametro di circa 2 cm., è attraversato eccentricamente da una spranghetta di

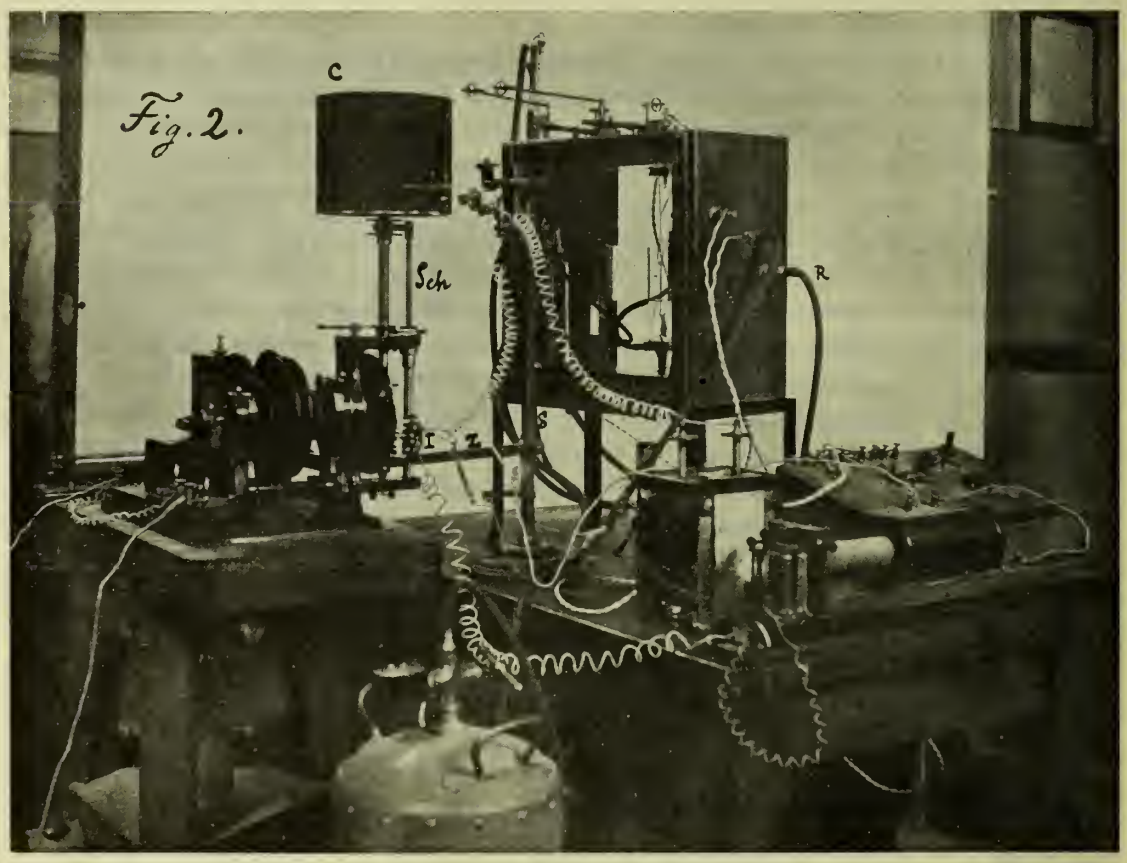


Fig 2.

ottone di 2 mm. di spessore, che termina alle due estremità (superiore o esterna, e inferiore o interna) con due serrafili fissati ai dischi di ebanite (AM, BM; fig. 4), e nel centro da un filo (f, fig. 4) destinato a congiungere il muscolo con la leva scrivente. Un altro serrafili [$M(AB)$, fig. 4] è, in fine, fissato nel centro della parete metallica superiore del termostato, con cui fa corpo, a eguale distanza dai due precedenti.

Le pareti laterali sono attraversate, a pieno spessore, ciascuna da 4 tubi di rame, del diametro di circa 1 cm., e che si sporgono per 1 cm. circa all'interno ed all'esterno della camera. Due di questi tubi per ciascuna parete sono rivestiti internamente, ed esternamente per la parte sporgente, di ebanite, e sono attraversati da aste di ottone

di 2 mm. di spessore, che terminano ciascuna con due serrafili fissati all'ebanite stessa, e che sono perciò isolati dalla parete metallica della camera (*NA*, *NB*; fig. 4). Gli altri due tubi terminano all'esterno della camera con due rubinetti (*R*, O_2; fig. 3);

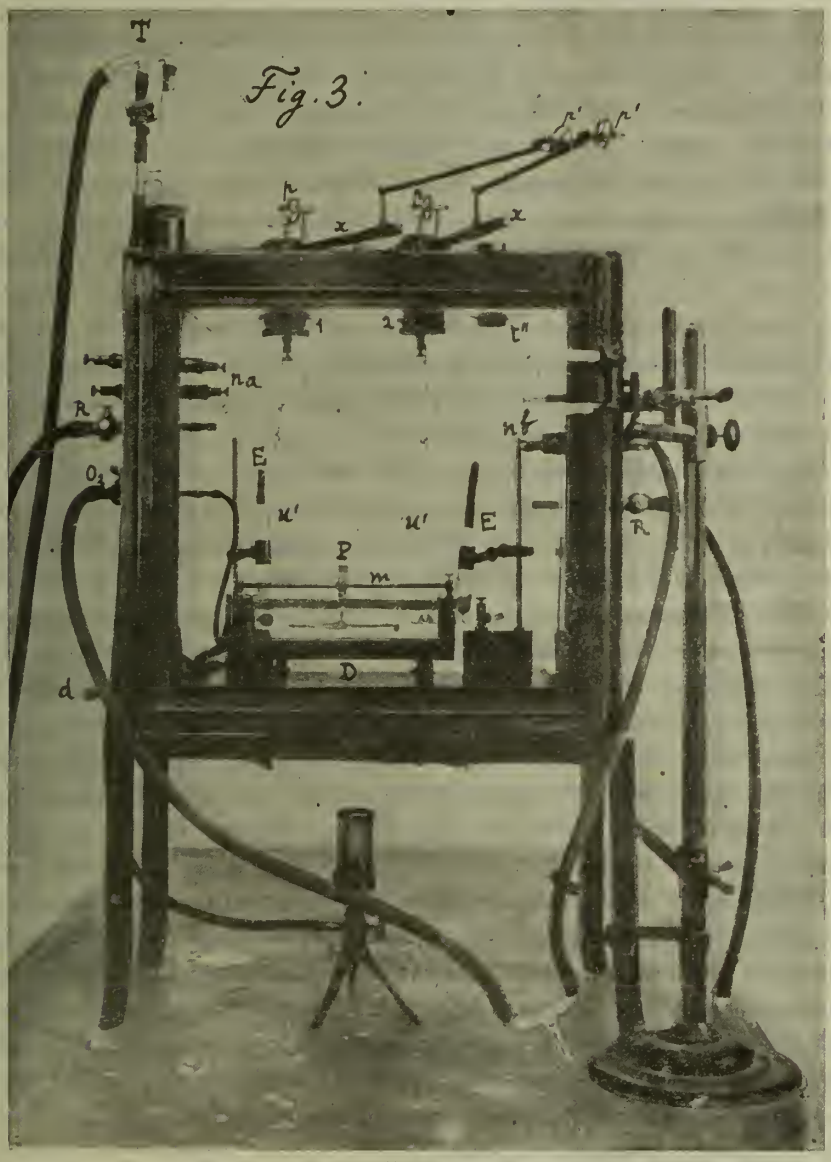


Fig 3.

all'interno, con due estremità portagomme. La parete esterna laterale sinistra (fig. 3) presenta finalmente in basso un'apertura fornita di rubinetto (*d*, fig. 3), per la quale la camera viene vuotata dell'acqua contenuta nella sua doppia parete.

Sulla superficie interna della parete inferiore sono fissati due coni tronchi metallici, dell'altezza di 15 mm., il cui centro corrisponde perfettamente al centro dei

due tubi isolati che attraversano a pieno spessore la parete superiore. Su questi coni pieni s'impiantano due coni metallici cavi, i quali terminano superiormente con due pezzi, anche conici, di ebanite, il cui centro è attraversato da un robusto uncino di oro (*u*, fig. 4), che inferiormente stabilisce contatto con la parete metallica della camera. Sul cono tronco d'ebanite s'impianta il recipiente cilindrico destinato a contenere il liquido di Ringer e il preparato (*T*, *T*; fig. 4). Esso è costituito da un grosso tubo di vetro, del diametro di circa cm. 4,5 e dell'altezza di circa cm. 12; è fissato inferiormente, mediante mastice da vetrai, in una doccia circolare scavata nella superficie superiore di un disco di ebanite, che presenta nel suo centro un foro, il quale s'adatta, a tenuta d'acqua, sul cono di ebanite dianzi descritto. Sull'orlo di questo disco sono impiantati due piccoli tubi portagomme, anch'essi di ebanite, che s'aprono, mediante due canalini scavati nello spessore del disco, sulla faccia superiore di esso.

La camera-termostato, così come è stata descritta, permette di sperimentare contemporaneamente su due preparati muscolari tenuti nelle identiche condizioni: il che può riuscire, nonchè utile, indispensabile quando si vuole fare il confronto degli effetti di condizioni diverse in cui furono messi due preparati simmetrici.

La regolazione della temperatura nella camera si fa abbastanza bene. Come agevolmente si comprende, è l'acqua contenuta nella doppia parete, che riscalda l'aria della camera, la quale a sua volta mantiene a temperatura costante il liquido di Ringer dei recipienti *T*. Questo liquido viene prima portato a una temperatura prossima a quella alla quale è regolata la camera, e quindi conservato nelle bocce-serbatoi (ved. appresso) entro il termostato. Siccome, dopo aver disposto i due preparati nei recipienti *T* (fig. 4), e aver chiuso la camera, non c'è più bisogno di riaprirla, tutte le manipolazioni occorrenti potendosi fare dall'esterno, una volta raggiunta la temperatura per cui il termostato è regolato, essa rimane costante. Naturalmente, la temperatura che più importa di conoscere è quella del liquido di Ringer, in cui sono immersi i preparati neuro-muscolari. Questa temperatura è indicata da un piccolo termometro appeso, mediante un piccolo uncino di vetro, alla parete di ciascun recipiente *T* (fig. 4). Volendo poi far variare la temperatura, si mette fuori d'azione il termoregolatore, e si riscalda o si raffredda, rapidamente o lentamente, l'acqua contenuta nella doppia parete del termostato. Quando la temperatura dell'ambiente è molto bassa (nei più freddi mesi dell'inverno) o molto alta (nei mesi più caldi dell'estate), bisogna regolare di nuovo la temperatura del termostato, mediante il termoregolatore. Io ho cercato, però, di diminuire questa influenza della temperatura dell'ambiente sulla camera, ricoprendo, per quanto è possibile, di fogli di amianto e di feltro le pareti metalliche di essa.

I preparati muscolari vengono fissati, per l'estremità inferiore, all'uncino infisso nel cono d'ebanite già descritto (*u*, fig. 4); per l'estremità superiore, ad un lungo uncino anch'esso d'oro (*u'*), sospeso al filo *f*. La lunghezza dell'uncino è tale che il filo di seta *f* rimane sempre fuori del liquido. Ciascun filo attraversa la parete superiore della camera per il corrispondente passaggio isolato già descritto; e, scorrendo sopra due puleggine metalliche (*p*, *p'*; figg. 3 e 4), va a connettersi con una delle due leve scriventi (*L*, *L'*, fig. 4). Una delle due puleggine (*p*), la cui doccia corri-

sponde perpendicolarmente al centro dell'uncino fisso o inferiore, è sostenuta da un pezzo metallico che abbraccia il disco di ebanite, intorno a cui è girevole. Sullo stesso pezzo metallico è fissata un'asta di ottone, orizzontale (x, fig. 3), sulla quale scorre con movimento a slitta un altro bastoncino, dello stesso metallo, che sostiene l'altra puleggina (p'). Le due puleggine ruotano sullo stesso piano sul quale la leva scrivente esegue i suoi movimenti. Le leve scriventi, d'alluminio rigido con la punta di osso di balena (L, L'; fig. 4), sono due, fissate sullo stesso sostegno S (fig. 2), su cui si muovono solidalmente o separatamente in tutti i sensi, mediante il giuoco di opportune viti micrometriche e di cremagliere. L'asse di rotazione delle leve è situato sulla stessa verticale, e la lunghezza dei due bracci è identica in tutt'e due. Nel caso speciale, che verrà appresso considerato, in cui le due leve debbono essere utilizzate nello stesso esperimento, per evitare che la leva inferiore turbi il movimento della superiore, l'ampiezza del movimento della prima può essere limitata, mediante una vite di arresto, in modo che essa, nella sua escursione verso l'alto, non raggiunga mai la superiore, neppure se questa rimanga perfettamente orizzontale.

Per conservare il liquido di Ringer alla temperatura della camera, lo si tiene in bocce, che fungono da bottiglie di Woulff, della capacità di circa 150 cm.^{3}; una, quando il preparato è uno solo; due, quando sono due preparati. Ma se ne possono mettere nella camera anche quattro, due per ogni preparato, quando per es. si vuol sostituire, nel recipiente cilindrico T, al liquido di Ringer normale, un altro che contenga sciolta una certa sostanza, o viceversa. Le bottiglie sono chiuse da un tappo di sughero, attraverso il quale passano un tubo di vetro corto ed uno lungo, che va sino al fondo; esse comunicano, mediante il tubo lungo e un tubo di caucciù, con uno dei portagomma che si trovano sulla base di ebanite del recipiente cilindrico T, mentre il tubo corto comunica con uno dei rubinetti fissati nella parete laterale della camera, rubinetto (R, fig. 3) che si continua anch'esso all'esterno con tubo di caucciù. Questa disposizione permette, aspirando dall'esterno, di togliere il liquido dal recipiente cilindrico T e versarlo nella vicina boccia di Woulff, ovvero cacciarlo, soffiandovi dentro, da questa nel detto recipiente, senza aprire la camera-termostato. L'altra apertura che trovasi sulla base di ebanite di ciascun recipiente cilindrico T è connessa con l'altro rubinetto (O_2, fig. 3), che, all'esterno, comunica con un gassometro, in cui è contenuto ossigeno sotto pressione.

Aprendo il rubinetto O_2 (fig. 3), l'ossigeno gorgoglia nel liquido contenuto nel recipiente cilindrico T; si può agevolmente regolare la quantità di ossigeno che passa, manovrando da una parte sulla chiave del gassometro e dall'altra sul rubinetto O_2.

2. *Descrizione del chimografo, del dispositivo per l'accostamento e allontanamento automatici delle leve, dell'interruttore elettrico automatico.*

Il chimografo (cfr. figg. 2 e 4) è quello elettrico di Straub. Ad esso, due moficazioni sono state apportate. La prima consiste nell'adattamento sul suo asse di rotazione, verso la estremità inferiore, di un disco eccentrico, sul cui orlo poggia una puleggia sostenuta da una spranga metallica orizzontale (Z, fig. 2), solidalmente connessa col grande sostegno (S, fig. 2) delle leve scriventi e del segnale elettro-

magnetico. La base di questo sostegno è molto solida e pesante, e l'asta orizzontale è girevole su questa base per circa 45°. Una molla a spirale di acciaio mantiene sempre aderente l'estremità, fornita di puleggia, della branca orizzontale *Z* all'orlo dell'eccentrica (fig. 2). Ad ogni giro del chimografo, l'asse verticale del sostegno *S* è obbligato, per l'azione dell'eccentrica sull'asta orizzontale *Z*, a ruotare di circa dieci gradi. Di conseguenza, le leve vengono alternativamente avvicinate alla superficie di registrazione, e poi allontanate da essa. Modificando la posizione dell'eccentrica, si può far variare la durata dei contatti delle leve col cilindro del chimografo.

La seconda modificazione consiste nell'adattamento di un interruttore automatico (*I*, fig. 2) sullo stesso asse di rotazione del chimografo, poco al di sopra della eccentrica. Sull'asse *As* del chimografo *C* (ved. fig. 4) sono fissati, pur rimanendo spostabili circolarmente, due dischi di ebanite (*D*, *D'*) dello spessore di 1 cm. ciascuno, del diametro di 35 mm., e l'uno dall'altro distanti circa 5 mm. Sulla circonferenza di questi dischi sono applicate due laminette di ottone ben levigate e coperte di platino (*O*, *O'*), di lunghezza tale che occupano circa un quarto della circonferenza del rispettivo disco. La posizione relativa dei due dischi, e quindi delle due lamine metalliche, viene determinata a volontà, in guisa da farle coincidere sulle stesse verticali, o da spostarle, l'una rispetto all'altra, di qualsiasi arco di cerchio. Sul sostegno dello *chariot* del chimografo (*Sch*, fig. 2) è fissata una lamina di ebanite (*Eb*, fig. 4), da cui partono 4 molle di acciaio (*1*, *2*, *3* e *4*, fig. 4), le cui punte platinate strisciano sulla periferia dei dischi (due per ciascun disco). A ciascuna molla corrisponde un serrafilo fissato sulla lamina di ebanite. Di questi quattro serrafili, *3* e *4* sono intercalati sul circuito primario (ved. fig. 4, in nero), *1* e *2* sul secondario (fig. 4, in rosso e bleu). Così che è lo stesso cilindro, che girando, provoca la chiusura e l'apertura dei due circùiti, e quindi la stimolazione. Aggiustando opportunamente la posizione dell'eccentrica rispetto all'interruttore, è facile ottenere che l'apertura del circuito primario avvenga in un tempuscolo di poco posteriore al momento nel quale avviene il contatto fra le leve scriventi e la superficie del chimografo.

La ragione per la quale un interruttore automatico è intercalato anche sul circùito secondario, è la seguente. Io volevo utilizzare la sola scossa d'apertura. A questo scopo, i due dischi di ebanite, *D D'* (fig. 4), sono disposti in modo che la chiusura del circuito primario avvenga prima di quella del secondario, e che l'apertura del circuito secondario avvenga dopo quella del primario. Così che ad ogni giro del chimografo avviene, in tempuscoli successivi,

[1°) chiusura del circuito primario;]
2°) chiusura del circuito secondario;
3°) apertura del circuito primario (stimolo!);
[4°) apertura del circuito secondario.]

In questo modo, lo stimolo di chiusura viene ad essere grandemente ridotto nella sua intensità: anzi, praticamente e nell'immensa maggioranza dei casi, soppresso. La soppressione completa, com'è noto, è irrealizzabile. Solo quando si sperimenta su preparati straordinariamente eccitabili, la chiusura del circuito secondario (2° tempo) si dimostra stimolo efficace. Modificando opportunamente la lunghezza delle lamine

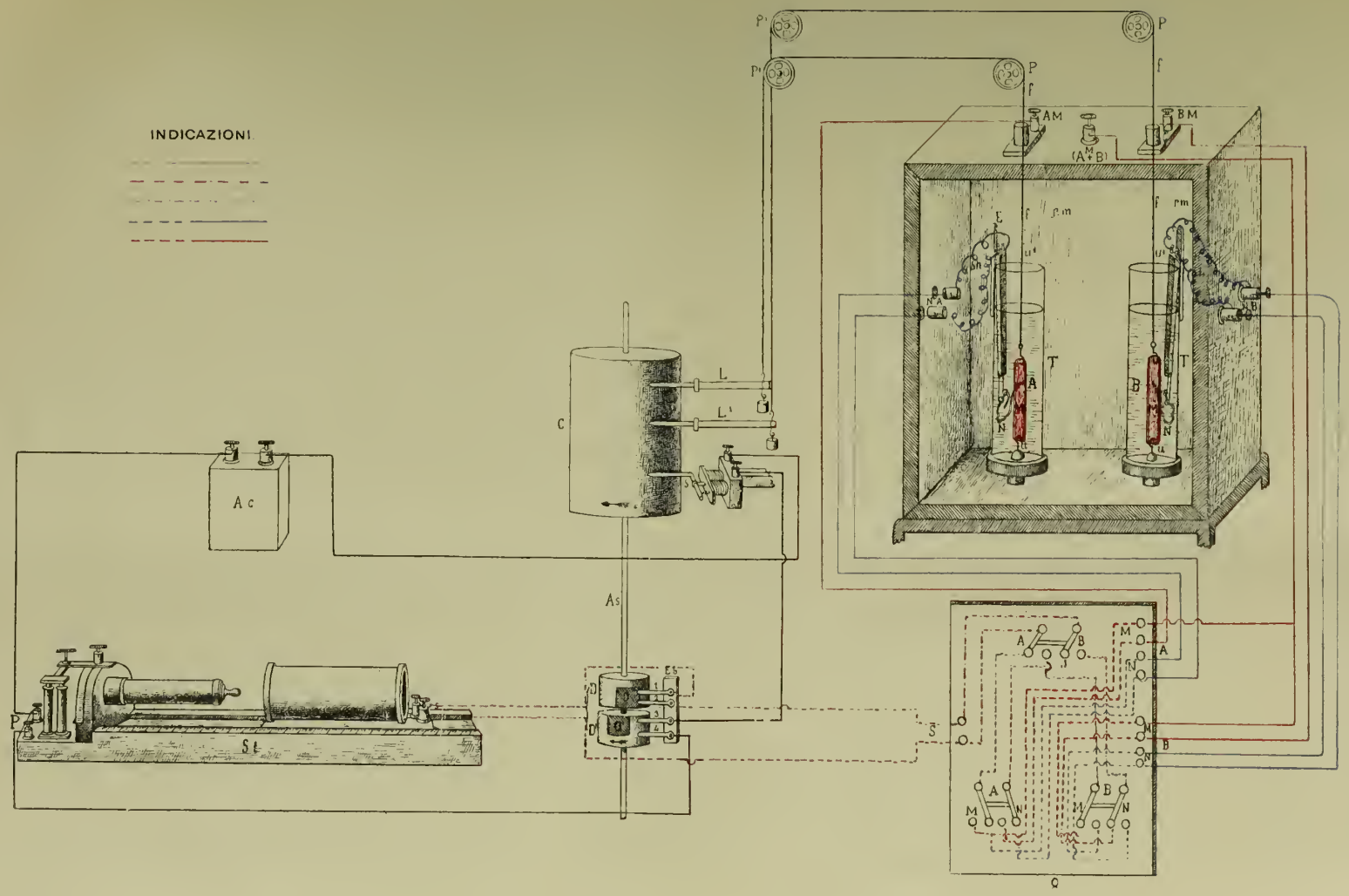


Fig. 4.

E. CALZONE — ROMA.

metalliche applicate sui dischi, si può ottenere che fra la chiusura del circuito secondario (2° tempo) e la apertura del circuito primario (3° tempo) passi un intervallo variabile nei limiti della durata di rotazione del chimografo ([3]).

In una prima serie di ricerche, fra i momenti 2° e 3° passava un tempo brevissimo. In queste condizioni, nei casi, per altro rari, in cui la chiusura del circuito secondario era stimolo efficace, l'effetto di esso si addizionava con quello dello stimolo corrispondente all'apertura del circuito primario, in modo da dare una curva di contrazione apparentemente semplice, ma che in realtà era una « coppia ». In una seconda serie di ricerche, perciò, l'intervallo fra la chiusura del circuito secondario e l'apertura del primario (che soli possono costituire stimoli) fu allungato al massimo possibile. In queste condizioni, ove la chiusura del circuito secondario costituisca stimolo efficace, non è possibile che gli effetti dei due stimoli si addizionino interamente, e quindi possono essere agevolmente scoperti sulle rispettive curve di contrazione.

Nelle ricerche sulla fusione e sovrapposizione di due contrazioni semplici, cioè su quelle che ho chiamato « coppie », e che riferirò in una Memoria che a questa seguirà, avevo bisogno che due stimoli unici d'apertura si seguissero, e colpissero il nervo o il muscolo con un intervallo variabile a volontà. Ciò ho ottenuto semplicemente interponendo un terzo disco di ebanite, girevole sullo stesso asse del chimografo, fra i due dischi fissi. Questi portano i contatti fissi; quello porta due lamine metalliche, una delle quali si eleva sul disco superiore, mentre l'altra discende sul disco inferiore, e che costituiscono i due contatti mobili. Siccome nè i contatti fissi nè i mobili sono sulle stesse verticali, ruotando più o meno il disco centrale, e quindi allontanando più o meno i contatti mobili dai fissi, io ottengo che i due stimoli di apertura (corrispondenti alle due aperture del circuito primario) si succedano con un intervallo di tempo variabile a volontà, e quindi provochino due contrazioni, o del tutto distinte fra loro (quando l'intervallo è massimo), o del tutto fuse e sovrapposte (quando l'intervallo è il minimo possibile, data la disposizione descritta).

Se, però, l'interruttore automatico, semplice o doppio, ora descritto, è fissato all'asse del chimografo, io non posso ottenere se non uno o due stimoli (una o due contrazioni) per ogni giro del chimografo. Ma io avevo anche bisogno di stimolare il nervo o il muscolo con stimoli unici d'apertura seguentisi con una frequenza indipendente dalla velocità di rotazione del chimografo: per es., sia nello studio della fatica, sia in quello del tetano. A tale scopo, ho disposto un interruttore automatico, costruito secondo lo stesso principio, a parte e indipendentemente dal chimografo, un interruttore che è messo in movimento di rotazione mediante un motorino elettrico, il quale, fatto girare con piccola o grande velocità, mi permette di ottenere stimoli di frequenza minima, per es. 30-40 al 1′, o anche meno, e stimoli di frequenza massima, per es. 100 e più al 1″, e poi stimoli di qualsiasi frequenza intermedia. Gli stimoli di piccola e media frequenza mi servono per esplorare incessantemente l'eccitabilità del preparato durante un esperimento di lunga durata, e per ottenere le curve di fatica; quelli di grande frequenza, per provocare tetani incompleti o completi, a volontà. Nel primo caso, determino la frequenza degli stimoli semplicemente contando, con l'aiuto di un contasecondi, il numero delle contrazioni per minuto.

Nel secondo, la determino registrando sotto la curva tetanica: 1°) le oscillazioni di di un segnale elettromagnetico intercalato nel circuito primario; 2°) le oscillazioni di un diapason a 200 vibrazioni doppie, attivato elettricamente. L'inizio della stimolazione naturalmente, è indicato, dal primo spostamento del segnale; la fine, dall'ultimo spostamento.

3. *Descrizione dei circuiti stimolanti.*

A) Stimolazione con corrente indotta (ved. fig. 4).

Con l'accumulatore *Ac* è connesso il rocchetto primario dell'induttorio a slitta (*Sl*) di du Bois-Reymond, il segnale elettro-magnetico (*s*), e i due serrafili *3* e *4* dell'interruttore automatico già descritto (circuito primario *P*, tracciato in nero).

La corrente indotta (circuito secondario, *S*, tracciato in rosso e bleu) passa per i serrafili *1* e *2* dello stesso interruttore, e per il quadro di distribuzione *Q*, donde può essere inviata al preparato *A* o al preparato *B* (ved. figg. 2 e 4), sia (circuito rosso) agli eccitatori del muscolo $\left[Am, \frac{M}{(A+B)}; BM, \frac{M}{(A+B)}\right]$, sia (circuito bleu) a quelli del nervo (*NA*, *NB*), di ciascun preparato.

Nella fig. 4 è indicato l'invio della corrente al nervo del preparato *A*.

Ho già detto che il serrafili $\frac{M}{(A+B)}$ fa corpo con la parete metallica superiore della camera, mentre i due serrafili *AM* e *BM* sono isolati. Con la parete metallica inferiore della camera stanno anche a intimo contatto i due uncini d'oro inferiori (*u*, *u*). Isolati sono invece i serrafili *AN* e *BN*, coi quali sono connessi, mediante i reofori *rn*, i due eccitatori dei nervi (*E*, *E*).

Per stimolare il nervo *N* del preparato *A* o del preparato *B*, dunque, bisogna inviare la corrente verso il serrafili *AN* o verso *BN*; e analogamente, per stimolare il muscolo *M* del preparato *A* o del preparato *B*, bisogna inviarla verso i serrafili $\left(AM, \frac{M}{A+B}\right)$, o verso i serrafili $\left(BM, \frac{M}{A+B}\right)$, il serrafilo $\frac{M}{A+B}$ essendo comune all'uno e all'altro preparato, poichè esso corrisponde all'intera parete metallica della camera, con cui si trovano a contatto gli uncini inferiori *u u*. I serrafili *AM* e *BM* sono connessi con gli uncini superiori *u' u'* mediante i reofori *rm*.

4. *Disposizione orizzontale del preparato muscolare.*

Nella disposizione innanzi descritta, il preparato muscolare è sospeso verticalmente nel liquido. Per ricerche speciali, che verranno a suo tempo descritte, può occorrere che il muscolo sia disposto orizzontalmente.

In questo caso, nella camera-termostato, in luogo dei due recipienti cilindrici *T*, vien disposta la vaschetta orizzontale *D*, rappresentata nella fig. 3. Essa è di forma rettangolare, alta 35 mm.; e i suoi lati misurano 140 mm. il maggiore, e 30 mm.

il minore. Superiormente la vaschetta è aperta. Le pareti inferiore e laterali sono di ebanite; l'anteriore e la posteriore sono di vetro. Nelle pareti laterali, internamente, quasi a metà dell'altezza, sono infisse due spranghette d'avorio, che finiscono ad uncino, e che portano lateralmente, ciascuna, una puleggina di oro, che gira facilmente intorno al proprio asse. La parete laterale destra presenta due fori: uno per il passaggio del liquido di Ringer, l'altro per il passaggio dell'ossigeno.

La vaschetta vien messa nel termostato al posto occupato dai due recipienti cilindrici *T*, in modo che la doccia delle due puleggine d'oro corrisponda ai due uncini (*u'*, fig. 3) connessi, mediante due fili di seta, alle leve scriventi, e, mediante reofori flessibili, ai serrafili superiori. Essa poi comunica, mediante tubi di caucciù, con la bottiglia di Woulff riempita di liquido di Ringer, e col gassometro dell'ossigeno.

Il muscolo può essere fissato, per una delle sue estremità, a uno degli uncini d'avorio, mentre l'altra estremità vien legata ad un filo che, passando nella doccia della puleggina d'oro della parete opposta, va a connettersi con l'uncino *u'* corrispondente. In questo caso è utilizzata una sola leva scrivente. Ma può anche il muscolo, legato alle due estremità con due fili che passano per le doccie delle due puleggie, essere messo in connessione con ambedue gli uncini *u'*, e quindi con ambedue le leve. In questo caso, il muscolo viene fissato nella parte centrale, o a qualsiasi punto della sua lunghezza, mediante una pinza d'avorio (*P*, fig. 3), scorrevole su di un bastoncino metallico (*m*) parallelo al margine libero della parete posteriore della vaschetta.

Per le stimolazioni elettriche del nervo o del muscolo in posizione orizzontale, bisogna distinguere le stimolazioni con corrente indotta da quelle con corrente continua. Per le stimolazioni con corrente indotta, si può stimolare il nervo o il muscolo. Nel primo caso, il nervo viene adagiato su due elettrodi di platino, la cui distanza è modificabile, e che scorrono sullo stesso bastoncino su cui scorre la pinza d'avorio *P*. Tali elettrodi sono in connessione, mediante spirali di rame, coi serrafili *na* o *nb* (fig. 3). Per stimolare direttamente il muscolo, si adopera un paio di eccitatori, che scorrono su una spranghetta metallica parallela alla parete anteriore della vaschetta. Essi vengono riuniti, mediante una spirale di rame, ai serrafili *na* o *nb*. Poichè i due elettrodi sono spostabili, si può stimolare il muscolo per tutta la sua lunghezza, ponendo i due elettrodi a contatto con le due estremità del muscolo, come quando questo si trova in posizione verticale, ovvero in una determinata regione.

Nel caso, poi, in cui il muscolo è fissato nel mezzo, e ambedue le sue estremità sono in connessione con le leve scriventi, si può anche stimolare il preparato in tutta la sua lunghezza, o alternativamente la metà destra e la sinistra.

Quando si vuole stimolare il preparato con la corrente costante, essendo necessario l'uso di elettrodi impolarizzabili, sono indispensabili l'uso della vaschetta e la disposizione orizzontale del muscolo. Gli elettrodi impolarizzabili, per es. quelli di Oker-Blom (*E*, *E*; fig. 3), vengono introdotti anche essi nel termostato, e applicati facilmente sul muscolo, come mostra la fig. 3, o sul nervo. Sono connessi coi serrafili, ai quali si fa giungere la corrente elettrica dall'esterno.

Per procurarmi la corrente continua, ho da principio utilizzato una batteria di sei accumulatori (circa 12 volta); ma poichè gli effetti osservati erano debolissimi,

son dovuto ricorrere alla corrente stradale continua di 110 volta Tale corrente veniva ridotta mediante un reostato regolatore del voltaggio. Un voltametro intercalato nel circuito indicava il voltaggio in ogni esperienza.

Qualunque sia la disposizione del preparato muscolare, esso rimane costantemente immerso nel liquido di Ringer ossigenato dei recipienti cilindrici o della vaschetta. Solo quando tutto è pronto per registrare un gruppo di contrazioni, si aspira dall'esterno il liquido, lasciando allo scoperto il solo nervo, o anche l'estremità superiore del muscolo (quando è sospeso verticalmente), o tutto il muscolo (sia quando è disposto verticalmente, sia quando si trova in posizione orizzontale), ma sempre per brevissimo tempo, e senza interrompere il passaggio dell'ossigeno. Finita la registrazione, immediatamente si fa passare di nuovo il liquido dalla bottiglia di Woulff nel recipiente *T* dove si trova il preparato, che, perciò, non è mai esposto al disseccamento.

BIBLIOGRAFIA

(1) Fil. Bottazzi, *Ein Warmblütermuskelpräparat* etc., Zeit. f. Biol., XLVIII, pag. 437 e 438, a. 1906. (Ved. le figg. 1A e 1B).

(2) Una disposizione analoga fu adottata da G. Fano, *Contributo allo studio dei rifl ssi spinali* (*Ricerche sperimentali*). Mem. d. R. Accad. d. Lincei (5), IV, pag. 468, a. 1902

(3) Come si vede, la disposizione da me adottata differisce notevolmente da quella descritta, allo stesso scopo, da C. Schwarz, *Ein Apparat zur rhythmischen Reizung mit einzelnen Oeffnungs- oder Schliessungs-Induktionsschlägen* Zentr f. Physiol., XX, pag 879, 23 März, 1907. Essa somiglia, invece, a quella che fu descritta da G. Fano (loc. cit.); ma, nei particolari, ne differisce pure.

CAPO IV.

Sopravvivenza del preparato frenico-diaframmatico, sua eccitabilità, contrazioni ritmiche automatiche, fenomeni di contrattura e rigor mortis.

Trattandosi di preparati neuro-muscolari di animali omeotermi, si comprende che un'influenza di prim'ordine esercitano la temperatura e la presenza di ossigeno disponibile, sia sulla durata della sopravvivenza, sia sull'eccitabilità del nervo e del muscolo. Di questo argomento, però, non mi occupo particolarmente ora, avendo

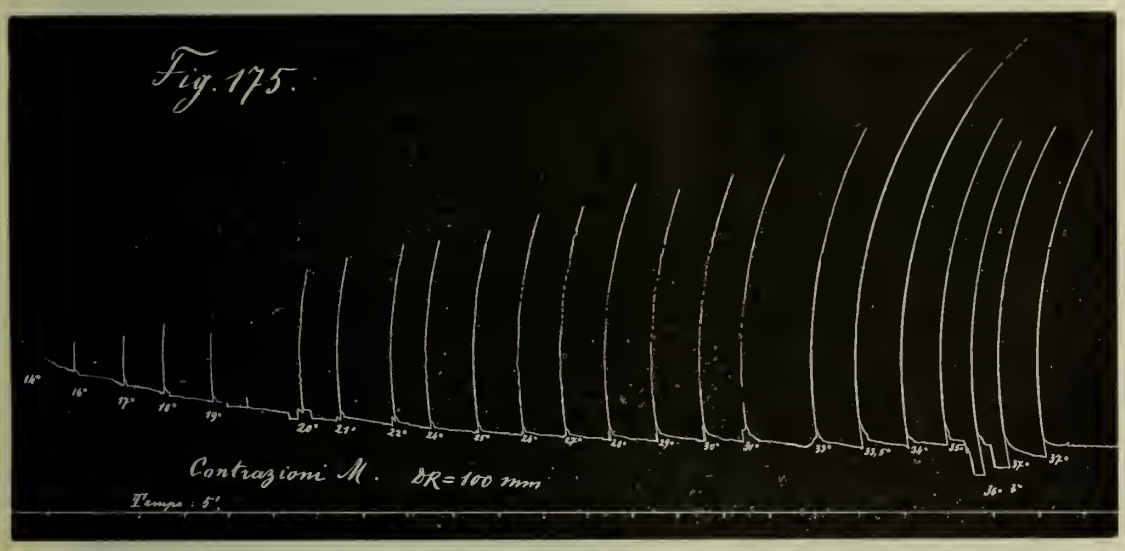


Fig. 4 *a* (Riduz. fotografica).

deliberato di pubblicare separatamente, il che farò presto, i risultati delle mie ricerche riguardanti l'azione che esercitano sulla contrattilità e sulla conduttività neuromuscolare del preparato frenico-diaframmatico le variazioni della temperatura del liquido di Ringer, in cui esso trovasi immerso, e i gas respiratorii, ossigeno e acido carbonico.

Qui mi limito ad aggiungere che, siccome le temperature prossime a quella normale del corpo dell'animale esauriscono presto il preparato neuromuscolare, in generale, per prolungare la sopravvivenza di esso, io in molti casi ho mantenuto intorno ai 34° la temperatura del termostato, o anche a temperature inferiori, e non l'ho elevata a 37°-38° C. e più, se non in casi e per ragioni speciali.

Molti esperimenti mi hanno infatti dimostrato che, nelle condizioni di sopravvivenza del preparato frenico-diaframmatico, la temperatura *optimum* non è quella del corpo, ma è notevolmente inferiore, e propriamente, come risulta dai tracciati delle figure 4 *a*, 4 *b*, 4 *c*, oscilla intorno ai 34° C.

A questa temperatura, o a temperature di poco (1-2 gradi) differenti, e mentre incessantemente gorgogliava l'ossigeno per il liquido di Ringer, le ricerche, che appresso riferirò, furono spesso eseguite.

*
* *

Io ho raccolto molti tracciati della normale sopravvivenza del mio preparato. Essi furono registrati su cilindro rotante a piccola velocità. Ne riporto qui sùbito uno [fig. 5 (*)], il quale presenta varii fenomeni degni di nota: contrazioni ritmiche spontanee, spontanea contrattura iniziale di lunga durata con oscillazioni del tono, forti contrazioni provocate mediante stimoli elettrici di corrente indotta applicati al nervo (*N*) o al muscolo (*M*) [stimoli di varia intensità: (*DR*) = da 500 a 50 mm. (**)], le quali dimostrano lo stato di eccitabilità diretta o indiretta del muscolo; e final-

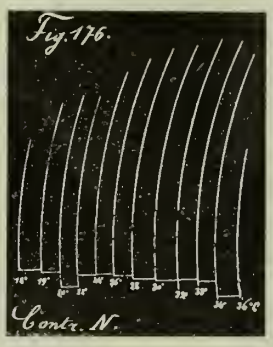


Fig. 4 *b* (Riduz. fotografica).

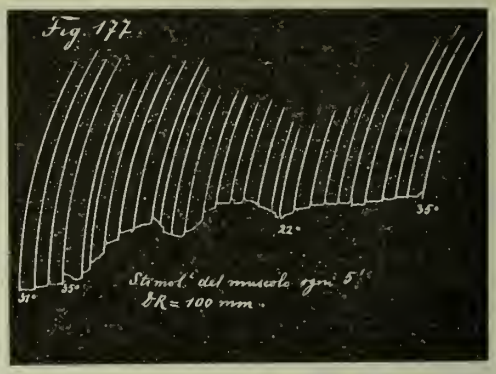


Fig. 4 *c* (Riduz. fotografica).

mente un lieve accorciamento terminale, che può considerarsi come espressione di *rigor mortis*. Durante l'esperimento, la temperatura salì da 23° C. a 30° C. Come risulta dalla stessa figura, il preparato, per un certo tempo dopo l'immersione in liquido di Ringer normale ossigenato, eseguì rapide contrazioni spontanee, inscritte sopra una linea di tono prima crescente e poi decrescente, ma anch'essa ondulata. Intanto gli stimoli elettrici, applicati al nervo o al muscolo, provocavano forti contrazioni. Si noti che con stimoli debolissimi (*DR* = 500 mm.) poterono essere provocate contrazioni assai forti, quando furono applicati al nervo: mentre per ottenere contrazioni di eguale altezza, stimolando direttamente il muscolo, fu necessario di ricorrere a stimoli molto più forti (*DR* = 100-50 mm.). A un certo momento, però, le stimolazioni del nervo diventarono inefficaci, nonostante fossero supermassimali, mentre le stimolazioni del muscolo d'intensità non molto piccola (*DR* = 100 mm.) continuarono ancora per molto tempo a provocare contrazioni di altezza quasi costante, quali sono le ultime quattro del tracciato, verso destra.

(*) I numeri d'ordine delle figure scritti sulle figure stesse non debbono esser presi in considerazione.

(**) *DR* significa sempre *distanza fra i rocchetti dell'interruttorio a slitta* di Du Bois-Reymond, sieno le due lettere intercalate nel testo, o scritte sui tracciati.

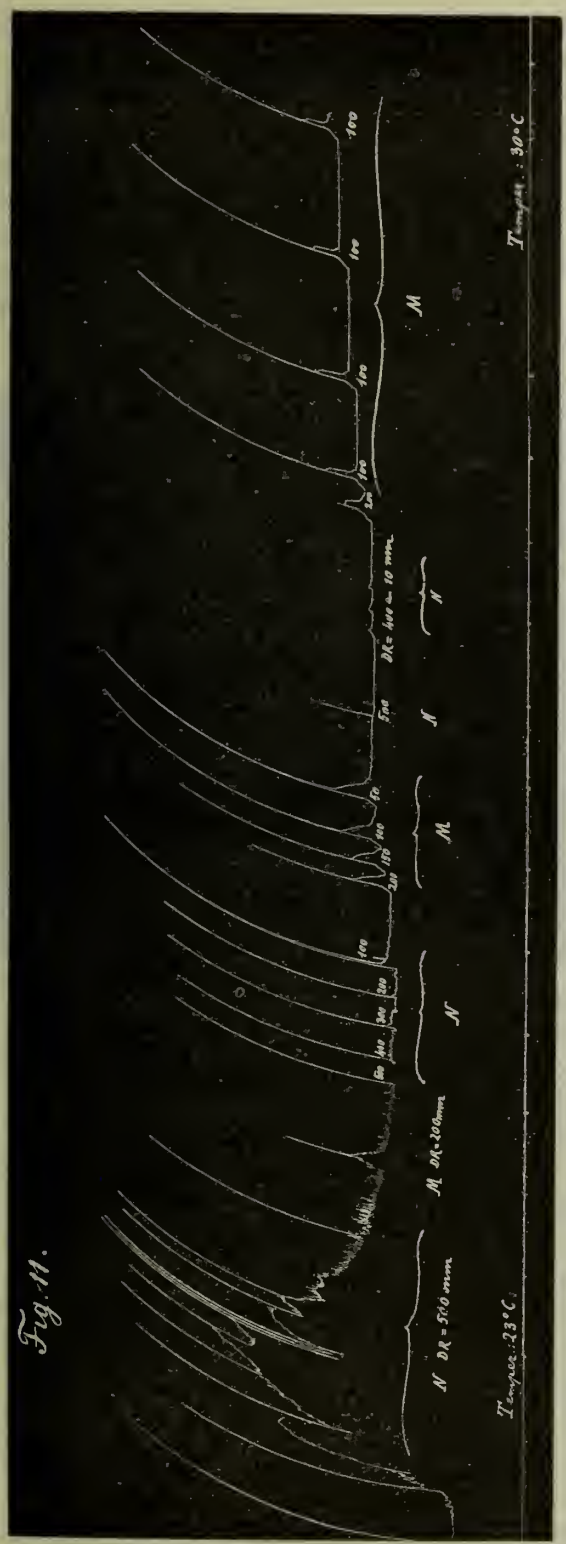


Fig. 5 (Riduz. fotografica).

Per quanto riguarda il tono il tracciato dimostra oltre alla lunga contrattura iniziale e alle oscillazioni del tono che l'accompagnano, due fatti che meritano di essere rilevati. L'uno è che *il tono diminuisce immediatamente dopo ogni contrazione provocata*: e la diminuizione è notevole dopo le tre contrazioni che si succedono con brevissimo intervallo, circa nel mezzo della contrattura; poi torna ad aumentare, e la curva si eleva di nuovo, accidentata per le frequenti piccole contrazioni ritmiche spontanee che si disegnano su essa come una fitta seghettatura. *Gli stimoli esterni esercitano*, dunque, in questo caso, *un'azione inibitrice transitoria sul tono del preparato.*

Questo tono non può essere d'origine centrale. perchè si verifica in un preparato neuro-muscolare separato dal corpo; è, dunque, d'origine periferica. Ma come si genera? Se fitte contrazioni ritmiche rapide non fossero inscritte anche lungo il tratto discendente della curva di contrattura e lungo il seguente tratto, presso che orizzontale, del tracciato, si potrebbe supporre che quella, che ho chiamato contrattura. fosse in realtà un fenomeno di accorciamento analogo al tetano incompleto. Ma il fatto dianzi rilevato esclude tale supposizione, perchè un tetano incompleto può presentare le tracce delle contrazioni semplici, onde è composto, lungo il tratto ascen-

dente e lungo l'altipiano della curva, ma non lungo il tratto discendente. E poi avrò anche in seguito occasione di presentare tracciati, nei quali esistono simili cospicue contrazioni ritmiche automatiche, senza traccia di accorciamento tonico del muscolo o di oscillazioni del tono. Ciò dimostra che i due fenomeni sono, o possono essere, indipendenti l'uno dall'altro. Si può ammettere che si diano condizioni di eccitazione automatica del preparato neuro-muscolare, le quali abbiano per effetto, da una parte l'accorciamento tonico del muscolo e le oscillazioni del tono, e dall'altra le contrazioni ritmiche spontanee, o l'uno e l'altro fenomeno nel tempo medesimo; ma non che la contrattura sia effetto della sovrapposizione e incompleta fusione delle contrazioni ritmiche automatiche, cioè che essa rappresenti un debolissimo tetano incompleto. Ma quali siano le condizioni, alle quali accenno, discuterò appresso.

Il preparato, finalmente, dopo avere raggiunto un allungamento massimo, cominciò gradatamente ad accorciarsi, come dimostra la curva lentamente ascendente rispetto all'ascissa. Questo accorciamento, graduale e assai lento, può essere ritenuto, quanto alla sua natura e origine, come affine a quello determinato da imbibizione, che sarà particolarmente studiato appresso.

La registrazione del tracciato fu interrotta quando il muscolo era ancòra eccitabile con stimoli diretti, mentre le stimolazioni del nervo avevano cessato da un pezzo d'essere efficaci, mentre cioè la conduttività neuro-muscolare era da un pezzo abolita.

Si noti che le oscillazioni del tono e le contrazioni ritmiche spontanee coincidono col periodo di piena, verosimilmente di massima o abnormemente alta eccitabilità del preparato, e cessano poco prima che si manifesti l'abolizione della conduttività neuro-muscolare, cioè la profonda alterazione delle giunzioni neuro-muscolari. A questo proposito, debbo avvertire che io parlo di *abolizione della conduttività neuro-muscolare* tutte le volte che, essendo il muscolo ancora direttamente eccitabile, gli stimoli applicati al nervo si dimostrano impotenti a provocare la contrazione del muscolo. In tali casi, non potendosi ammettere, per ragioni ovvie, che sia abolita anche l'eccitabilità del nervo, per spiegare la mancanza delle contrazioni muscolari non resta se non ammettere che gli eccitamenti, trascorrenti per il nervo dal punto stimolato verso il muscolo, rimangano bloccati a livello delle giunzioni neuro muscolari, verosimilmente in seguito ad una irreversibile alterazione avente luogo nelle placche motrici.

È raro però il caso che uno stesso preparato presenti tutti insieme i fenomeni sopra descritti, durante la sua sopravvivenza. Talora mancano affatto le contrazioni ritmiche spontanee, o queste e l'accorciamento tonico iniziale, nel qual caso il muscolo conserva una lunghezza costante per più ore di continuo, come risulta da numerosi tracciati che credo superfluo riprodurre.

Per contro, l'accorciamento terminale, che nella fig. 5 è appena rilevabile (ultima porzione, a destra), in altri casi è molto più cospicuo: come per es. nella fig. 6, dove si vede che il detto accorciamento non s'inizia dopo che è cessata, ma mentre ancora sussiste una notevole eccitabilità muscolare, e continua per un tempo considerevole, durante il quale l'eccitabilità muscolare, pur decrescendo via via, è ancora abbastanza ben conservata. Parlo della eccitabilità muscolare diretta, perchè la ecci-

tabilità indiretta del muscolo, generalmente, o è già molto diminuita, al momento in cui s'inizia l'accorciamento terminale, o è del tutto scomparsa.

Raramente mi è occorso di osservare risoluzione dell'accorciamento terminale. Ma ciò non vuol dire che il muscolo diaframmatico, dopo aver presentato tale accorciamento, non sia capace di tornare ad allungarsi di nuovo. In questo muscolo, verosimilmente, alla rigidità cadaverica succede pure, come negli altri muscoli striati l'allungamento corrispondente alla risoluzione della rigidità. Ma il fenomeno si verifica generalmente tardi, e, avendolo osservato qualche volta, come dimostrano alcuni dei miei tracciati che non riproduco, non mi son poi curato di fare di esso particolare oggetto di studio.

Fig. 6 (Riduz. fotografica).

Un fatto, meritevole d'esser segnalato, risulta ancòra dal tracciato della fig. 6, ed è questo: le contrazioni provocate con stimoli elettrici durante il progressivo accorciamento del muscolo, appariscono sempre meno alte a misura che aumenta l'accorciamento del muscolo; ciò non ostante, esse raggiungono press'a poco, con i loro apici, la stessa altezza di quelle che precedono l'inizio dell'accorciamento. Avremo occasione d'imbatterci nello stesso fatto più volte, nel seguito. Ma io ho voluto richiamare fin da ora su esso l'attenzione del lettore, perchè qui si tratta d'un accorciamento durevole spontaneo del muscolo, accorciamento che, non essendo nemmeno iniziale, cioè essendosi verificato parecchio tempo dopo la separazione del preparato dal corpo dell'animale, è da ritenersi piuttosto come un accorciamento premortale, vale a dire precedente di poco la rigidità completa.

Certo è che nelle dette condizioni il muscolo, in ciascuna contrazione rapida, solleva il peso, onde è caricato, alla stessa altezza, sebbene al momento, in cui ciascuna contrazione s'inizia, il muscolo presenti una lunghezza differente. E poichè

l'altezza a cui il muscolo solleva il peso nelle successive contrazioni rapide è sempre minore, minore deve essere anche il lavoro che il muscolo compie; e questo lavoro è minore, perchè il peso è lentamente sollevato dall'accorciamento graduale del muscolo, e sostenuto alle altezze successivamente raggiunte. Si potrebbe quindi affermare, che l'accorciamento lento e graduale del muscolo avrebbe per effetto un risparmio di energia durante le contrazioni rapide, senza che per ciò il muscolo fosse impedito, compiendo tali contrazioni, di portare lo stesso peso alla stessa altezza di prima, se si potesse dimostrare che il consumo d'energia necessario per effettuare l'accorciamento tonico sia minore di quello occorrente a sollevare il peso alle stesse altezze, alle quali lo solleva l'accorciamento tonico, con contrazioni rapide.

Ma su ciò tornerò in seguito.

Altri tracciati, nei quali si può seguire il decorso della normale sopravvivenza ed eccitabilità del preparato frenico-diaframmatico conservato in liquido di Ringer ossigenato e, salvo in un caso, non esposto all'azione di alcun veleno, sono i seguenti.

In un esperimento, il preparato fu allestito nel modo consueto. Fin dal principio, esso presentò cospicue contrazioni ritmiche automatiche; le quali aumentarono notevolmente di altezza, dopo l'aggiunta di una piccola dose di solfato di veratrina al liquido di Ringer in cui il muscolo era immerso. Dopo un certo tempo, le contrazioni ritmiche cessarono del tutto, senza causa apparente, come senza causa nota s'erano sviluppate. Notai che esse raggiunsero il massimo d'intensità durante due successivi accorciamenti tonici del muscolo. In questo tratto, il tracciato somigliava perfettamente a un tracciato di organo muscolare liscio, per es. di esofago di pulcino, o d'intestino, o di m. retrattore del pene. Alte contrazioni isolate, a intervalli presso che regolari, furono provocate da altrettante scosse d'apertura di corrente indotta applicate direttamente al muscolo, poi che le giunzioni neuro-muscolari erano già divenute impervie. Pertanto è evidente che la trasmissibilità degli eccitamenti dal nervo al muscolo, ossia la conduttività neuro-muscolare, non è assolutamente necessaria perchè il muscolo sia in grado di eseguire le contrazioni ritmiche automatiche. Tuttavia, è certo che queste coincidono generalmente con la integrità delle giunzioni neuro-muscolari. Si noti che le contrazioni provocate d'ordinario appariscono più gagliarde durante il periodo della più intensa attività tonica e clonica del preparato diaframmatico, esaltata dalla veratrina. Questo fatto non è privo d'interesse. Esso rende legittima la supposizione che uno stesso aumento transitorio della eccitabilità del preparato neuro-muscolare è causa dell'aumento dell'altezza delle contrazioni provocate con stimoli elettrici, delle oscillazioni del tono del preparato, e dell'intensificarsi dell'attività contrattoria automatica in corrispondenza di queste.

Nella fig. 7 è riprodotto il tracciato ottenuto da un preparato freno-diaframmatico normale. Esso dapprima non presenta contrazioni ritmiche degne di nota. Ma in *A* entra spontaneamente in contrattura: per far cessare la quale, in *B* e *B'* si tira in basso la leva scrivente, al fine di allungare a forza il muscolo. Dopo ciò, il muscolo torna a contrarsi, ma anche ad eseguire cospicue contrazioni ritmiche spontanee, che durano per parecchio tempo, scompaiono quasi in *c*, per riapparire in *f*, e di nuovo cessare in *l*. Le stimolazioni elettriche del nervo, provocanti le contrazione

C, *C'*, *C''*, *a*, *b*, *c*, non pare che esercitino alcuna influenza sull'attività ritmica del

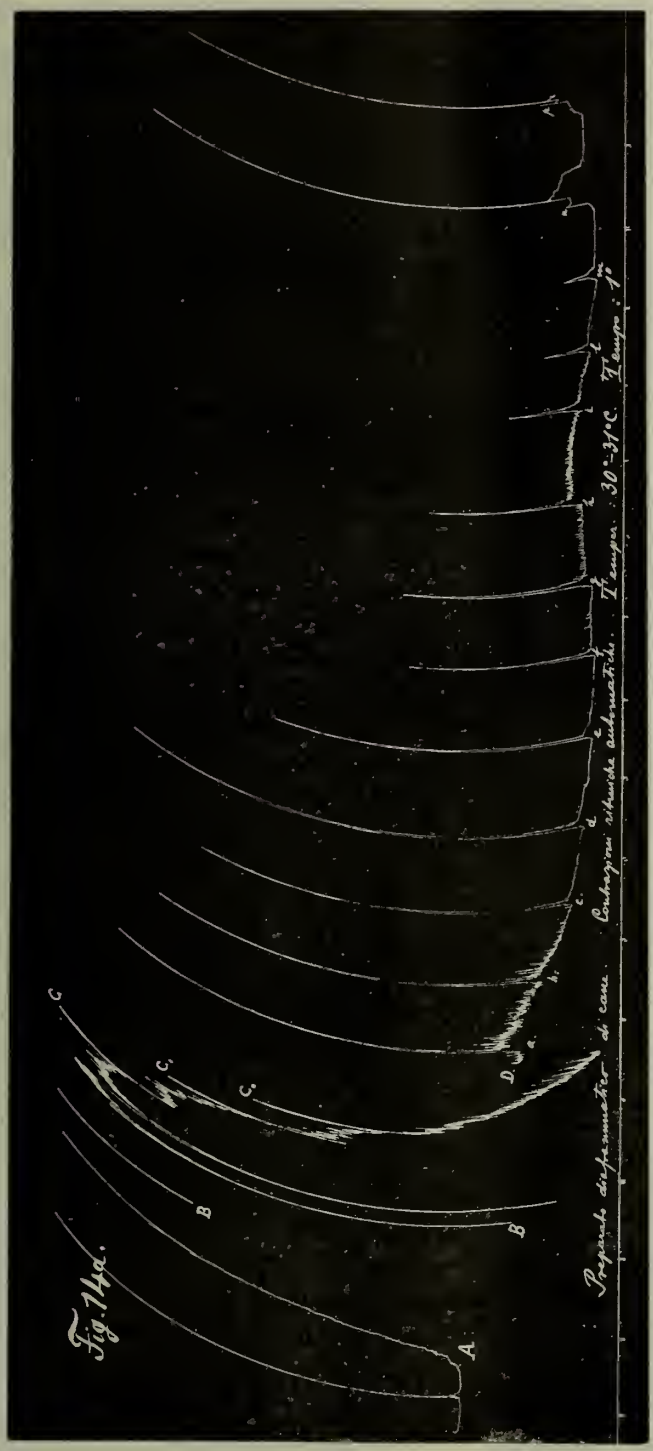


Fig. 7 (Riduz. fotografica).

preparato, la quale, dunque, in questo caso, coincide con la piena eccitabilità e conduttività delle fibre nervee e delle giunzioni neuro-muscolari.

Si noti che le contrazioni ritmiche, cessate quasi nel periodo fra *c* ed *f*, riappariscono in *f*, coincidendo con una notevole diminuzione della conduttività neuro-muscolare; si accompagnano fra *g* ed *l*, con un lieve aumento del tono muscolare, e da ultimo spariscono di nuovo col cessare quasi della conduttività neuro-muscolare, mentre la eccitabilità muscolare è ancora altissima, come dimostrano le contrazioni *n* e *p* provocate dagli stessi stimoli unici di corrente indotta (1 accumulatore, $DR = 100$ mm.) che prima erano stati applicati al nervo.

In un altro esperimento, contrazioni ritmiche cospicue furono registrate da un preparato diaframmatico di cane avvelenato lentamente col fosforo. Il processo degenerativo che si svolge nelle fibre muscolari durante l'azione lenta e prolungata del fosforo iniettato ipodermicamente a intervalli sotto forma di soluzione oleosa, come determina notevoli modificazioni della contrazione muscolare semplice provocata mediante stimolazioni elettriche, così costituisce anche una condizione, sembra, favorevole per la comparsa delle contrazioni ritmiche automatiche nel preparato diaframmatico.

Degno di essere riprodotto sarebbe stato anche un tracciato che presentava una forte contrattura iniziale e anche cospicue contrazioni ritmiche rapide. Le contrazioni provocate con stimolazioni del nervo durante gli accorciamenti tonici furono in quel caso altissime. Cessati questi accorciamenti, però, la conduttività neuro-muscolare tosto scomparve, mentre l'eccitabilità diretta del muscolo si conservò ancòra a lungo. Fu impossibile, però, provocare con stimolazioni dirette di eguale intensità, o magari d'intensità maggiore, contrazioni così alte come quelle che si ebbero durante le contratture.

Da altri esperimenti risulta che anche in assenza di contratture iniziali, cessate le contrazioni ritmiche automatiche, l'altezza delle contrazioni provocate da stimoli elettrici diminuisce, in confronto con quelle degli stessi stimoli provocate prima.

***

Di particolare importanza sono i tracciati che riproduco nelle figg. 8 e 9. Essi furono registrati da un preparato frenico diaframmatico destro di cane adulto, fin dal principio eccitabilissimo. Non appena immerso nel liquido di Ringer (fig. 8, I), esso incominciò a fare rapide contrazioni ritmiche spontanee, mentre la temperatura aveva ancòra raggiunto appena i 27° C. Quindi si elevò il tono, tanto che la curva I descrisse un'ampia contrattura, la quale solo dopo parecchio tempo accennò a risolversi. A cominciare dalla curva II, il preparato, senza cessare di compiere rapide contrazioni ritmiche, eseguì a regolari intervalli contratture d'altezza, prima assai grande, ma che poi andò mano mano scemando, pur essendo ancòra discernibili nella curva V della fig. 9. I tracciati dimostrano evidentemente che le contrazioni ritmiche rapide, mentre diminuiscono di altezza fin quasi a scomparire negl'intervalli fra le successive contratture, sulle cime di queste sono massimamente accentuate. Le stimolazioni del nervo, fatte nei punti indicati sulla fig. 8, provocarono sempre gagliarde contrazioni, non ostante che il nervo, durante le stimolazioni, rimanesse sempre immerso nel liquido di Ringer. La registrazione durò circa 5 ore e mezzo. L'intervallo fra le successive contratture fu di circa 12′, e si conservò presso che costante per tutto il tempo della registrazione del tracciato.

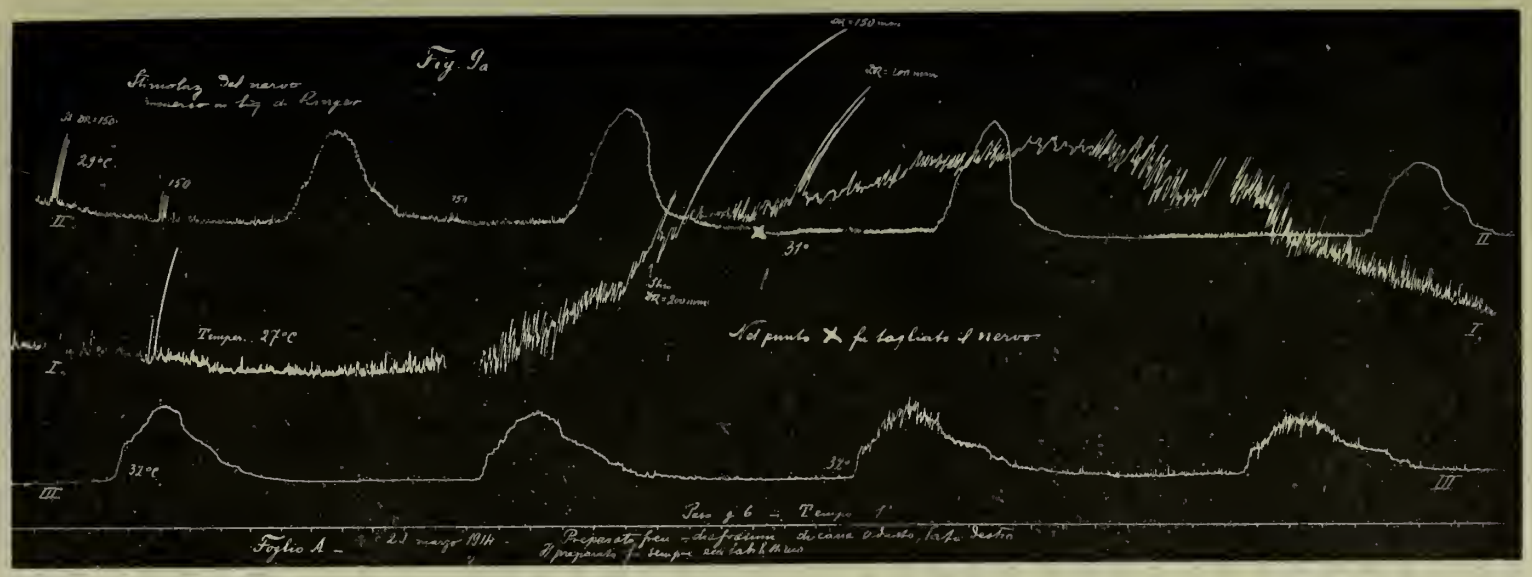


Fig. 8 (Riduz. fotografica).

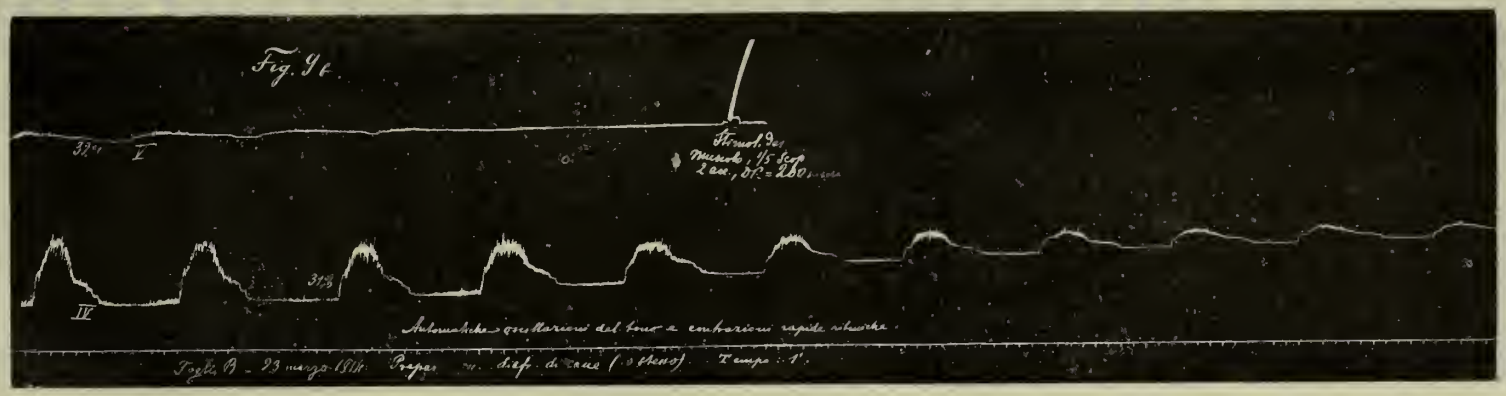


Fig. 9 (Riduz fotografica).

Variazioni (oscillazioni) del tono, cioè contratture periodiche accompagnate da rapide contrazioni ritmiche, ho osservato e registrato frequentemente; ma mai per sì lungo tempo, e solo in questo e in altri due casi presentarono una tale regolarità e costanza di forma e di periodo. Niuno che vedesse questi tracciati, senza sapere da quale organo fossero stati registrati, oserebbe supporre che appartenessero a un preparato diaframmatico, cioè a un muscolo striato isolato dal corpo dell'animale; e sarebbe piuttosto indotto a credere che fossero tracciati di esofago di pulcino, per es., o d'intestino, o di muscolo retrattore del pene o di altro qualsiasi organo muscolare liscio.

Dove e come si generano gli eccitamenti capaci di provocare nel preparato frenico-diaframmatico quelle contratture periodiche? Perchè sull'altipiano di esse le rapide contrazioni ritmiche s'intensificano? A queste e simili domande non è possibile di dare, per ora, una risposta soddisfacente.

Si noti che nel punto X della curva II della fig. 8 io volli tagliare il nervo fra il muscolo e il tratto prossimale di frenico che si trovava adagiato sugli elettrodi di platino. Ciò non ostante, le contratture continuarono ancòra per molto tempo, e senza che ne seguisse una variazione della forma o del periodo. Si noti, infine, che, cessate le contratture, il muscolo si dimostrò ancòra eccitabilissimo, come si vede all'estremità della curva V della fig. 9. (L'altezza visibile delle contrazioni corrisponde a meno della metà dell'altezza reale, perchè il foglio, per economia di spazio, fu tagliato prima di fotografarlo).

***

Sarebbe necessario ora riprendere particolarmente in esame i varî fenomeni, sopra accennati, e studiare di ciascuno di essi la genesi e il decorso.

Se non che, dovendo io in seguito trattare diffusamente della eccitabilità diretta ed indiretta del preparato frenico-diaframmatico, quale può rilevarsi dalle contrazioni che il muscolo compie in risposta a stimoli applicati al nervo o al muscolo, in condizioni diverse normali e sperimentali (e anche dei fenomeni di contrattura, o accorciamento tonico, e di rigidità), rimandando il lettore ai capitoli seguenti, mi limito ad aggiungere solo alcune osservazioni riguardanti, in modo speciale, il fenomeno delle contrazioni ritmiche automatiche.

Ma prima voglio rilevare il fatto, che la durata totale della sopravvivenza del preparato è diversa, come può agevolmente intendersi, per le varie parti onde esso è composto. Le prime a morire sono le giunzioni neuro-muscolari, ammettendo che la morte di esse coincide col momento in cui le stimolazioni del nervo appariscono inefficaci a provocare contrazione del muscolo. Per altro, la durata della conduttività neuro-muscolare è variabilissima. Si hanno casi, nei quali essa si presenta già abolita al momento della prima stimolazione del nervo, vale a dire pochi minuti dopo la morte dell'animale. Questi erano i casi, divenuti sempre più rari fino a scomparire quasi del tutto col perfezionarsi della tecnica da me seguìta, nei quali la muscolatura generale del corpo dell'animale e il diaframma intero, o la striscia già isolata, erano entrati in tetano violento durante la preparazione. Bisogna ammettere che in tali condizioni gli acidi, e magari anche altri prodotti dell'attività muscolare, determinano rapidamente

in quelle labilissime strutture, che sono le giunzioni neuro-muscolari, alterazioni irreversibili, tali da causare l'abolizione definitiva del passaggio degli eccitamenti dal nervo al muscolo. Ma quando ciò non avviene, le giunzioni neuro-muscolari rimangono pervie per un tempo che può variare da uno a due e talora anche a più ore consecutive. Da che dipenda tale variazione della durata di sopravvivenza in preparati allestiti nello stesso modo, è impossibile dire.

Generalmente, la cessazione completa della conduttività neuro-muscolare è preceduta da una diminuzione di essa. Non altrimenti credo si possa interpretare il fatto che, con l'andar del tempo, le contrazioni provocate mediante stimolazione del nervo, prima di altezza press'a poco costante, diminuiscono mano mano d'altezza, fino a scomparire del tutto. In verità questo fenomeno può significare, sia una generale diminuzione progressiva della pervietà in tutte le giunzioni, come anche il morire di alcune di esse prima delle altre. Uno studio profondo del fenomeno può dare una risposta soddisfacente a tale quesito; perchè se avviene un'alterazione progressiva generale di tutte le giunzioni, questa dovrebbe causare un prolungamento del periodo di latenza, terminante nel blocco assoluto: mentre, se la diminuzione dell'altezza delle contrazioni fosse dovuta a diminuzione numerica delle fibre muscolari che partecipano alla contrazione, proporzionale al numero di giunzioni rimaste integre, un prolungamento degno di nota del periodo di latenza non avrebbe ragione di verificarsi, almeno finchè le fibre contraentisi non fossero ridotte a un numero estremamente piccolo.

Dopo la morte delle giunzioni, il muscolo rimane ancòra eccitabile per un tempo lunghissimo. Basti dire che in qualche caso, avendo preparato la striscia di diaframma qualche ora dopo il mezzodì e messala in liquido di Ringer ossigenato; fatti poi gli esperimenti progettati, e lasciato il preparato nella camera-termostato, continuando a gorgogliare l'ossigeno per il liquido; il mattino seguente ho trovato ancora il muscolo mediocremente eccitabile. Per lo più il muscolo si accorcia, però, con l'andar del tempo. Come ho detto sopra, possiamo distinguere due accorciamenti del preparato diaframmatico, esclusi i casi in cui questo entra in contrattura durante la preparazione. Il primo avviene subito, o poco dopo l'immersione del preparato nel liquido di Ringer; dura pochi minuti, e si risolve più o meno presto e completamente. Il secondo, invece, avviene più tardi, e corrisponde o si continua, come ho detto, verosimilmente nel *rigor mortis*; mentre il primo è una contrattura fisiologica, di cui appresso discuterò la genesi.

***

Le contrazioni ritmiche del preparato diaframmatico. — Un fenomeno singolare, osservato da parecchi autori in condizioni diverse, consiste in ciò: che muscoli striati di varia natura, e appartenenti ad animali diversi, presentano contrazioni ritmiche apparentemente spontanee, che gli autori tedeschi chiamano fibrillari (« fibrilläre Zuckungen »). L'attività motoria ritmica è ritenuta generalmente come una proprietà caratteristica del cuore e degli organi muscolari lisci, mentre i muscoli striati, in condizioni normali, non si contraggono se non quando sono stimolati, direttamente o per il tramite dei rispettivi nervi motori. Il fatto, dunque, che un muscolo striato

presenta, in condizioni svariate, le dette contrazioni ritmiche, talora sotto l'influenza di certe sostanze chimiche, ma alcune volte anche quando è immerso in liquido fisiologico, e perfino quando si trova *in situ*, costituisce di per sè un'apparente eccezione alla regola, e quindi un fenomeno che merita di essere particolarmente studiato.

Intanto è da notarsi che i fenomeni motori, detti automatici in quanto non seguono a stimolazioni intenzionalmente applicate al nervo o al muscolo, consistono non solo in scosse rapide ritmiche o periodiche, cioè in una specie di tremore, ma anche in oscillazioni del tono, cioè in periodiche contrazioni toniche o contratture più o meno lunghe e lente, sulle curve delle quali sono inscritte le contrazioni rapide, per lo più senza alcuna regolarità di ritmo e di intensità. Tali oscillazioni del tono si veggono nei tracciati già riportati e in quelli delle figg. 10, 20, 21, 37 e 40.

Il primo accenno a contrazioni muscolari spontanee lente in muscoli striati fu dato da Bowman ([1]), nei muscoli d'insetti separati dal corpo; poi contrazioni analoghe furono osservate da Aeby ([2]), e finalmente meglio studiate da Rollett ([3]), il quale le descrive dicendo: « dass die Wellen steil ansteigende und abfallende, aber kurze (etwa 0,080-0,169 mm. lange und etwa 12-24 Querstreifen umfassende) Knoten vorstellen, die mit geringen Geschwindigkeiten (0,080-0,670 mm. in der Secunde) über die Fasern hinlaufen und sich in kürzeren oder längeren Intervallen immer wiederholen ».

Ma un caso più comunemente noto è quello che fu descritto da Biedermann ([4], [7]), il quale osservò che, immergendo il muscolo sartorio di rana in una soluzione di NaCl contenente Na_2CO_3 e Na_2HPO_4 (acqua 1 litro, NaCl gr. 5, Na_2HPO_4 gr. 2, Na_2CO_3 gr. 0,4-0,5), « beobachtet man bei nicht zu hoher Temperatur (3-10° C.) fast ausnahmslos nach einer kürzeren oder längeren Zeit der Ruhe den Beginn rhytmischer Thätigkeit des eingetauchten Muskels ». Egli osservò contrazioni piccole e grandi seguentisi con ritmo irregolare, e oltre a queste, « in langsamerem Rhytmus erfolgende Contractionen »; e perfino gruppi periodici di scosse muscolari, tali da ricordare la funzione periodica del cuore descritta dal Luciani. Poichè una simile attività ritmica presenta la « punta del cuore » priva di gangli sotto l'influenza di certe sostanze chimiche aggiunte alla soluzione di NaCl, di per sè inefficace, e, come vedremo appresso, sotto l'influenza della stimolazione continua di corrente galvanica; e poichè i muscoli striati, nelle dette condizioni, si contraggono ritmicamente anche se curarizzati, Biedermann conchiude che la genesi dell'attività ritmica è da cercarsi nelle stesse fibre muscolari, e aggiunge: « Es scheint überhaupt eine allgemeine Eigenschaft der Muskelsubstanz zu sein, bei allen dauernden Reizen unter gevissen Bedingungen in einen merkbar rhythmischen Erregzugszustand zu gerhaten ».

Ma già prima di lui, Locke ([5]) aveva osservato nel muscolo striato di rana immerso in soluzione di solo NaCl [specialmente se meno o più concentrata di quella ordinaria 0,5 %, secondo Carlslaw ([6])] e stimolato con forti scosse uniche di corrente indotta d'apertura, « tetaniforme Contractionen von enormen Höhe und einer Dauer von mehreren Secunden, nach welchen der Muskel plötzlich erschlaffte und nur einen kleinen Verkürzungsrückstand zeigte ».

Dopo queste osservazioni, e quelle di Howell ([8]) e di True ([9]), è stato principalmente Loeb ([10]) colui che ha fatto un più profondo studio dell'argomento.

Loeb ha trovato che sono gl'ioni Na, Cl, I, F e Br quelli che provocano contrazioni ritmiche nei muscoli; mentre altri ioni, quali il Ca, K, Mg etc., non solo non sono in grado di provocarle, ma sopprimono quelle provocate dagl'ioni sopra detti. Secondo Loeb, gl'ioni H e OH per sè stessi non sono capaci di provocare contrazioni ritmiche, ma ne favoriscono la comparsa se sono aggiunti a soluzioni contenenti solamente gl' ioni del primo gruppo, mentre non esercitano la stessa azione quando sono aggiunti a soluzioni contenenti i soli ioni del secondo gruppo. Nemmeno i non elettroliti sono capaci di provocare contrazioni ritmiche. Le soluzioni contenenti solamente NaCl sono tossiche; ma la tossicità degl' ioni Na è neutralizzata dall'aggiunta di ioni Ca e K nelle proporzioni in cui si trovano nel sangue (o nell'acqua di mare). Riassumendo i risultati di altre numerose ricerche fatte appresso, Loeb ([12], [13]) così si esprime: « it follows from our investigations that abnormal muscular twitchings and contractions may be brought about in an organism by a reduction in the proportion of calcium (or magnesium) in the muscles or the blood. or an increase in the proportion of Na and other kations » La diminuzione del Ca allo stato di ione provoca contrazioni ritmiche e scosse non solo di natura miogena, ma anche di natura neurogena (Sabbatani, [14]). E Loeb, confermando gl'importanti risultati di Sabbatani, aggiunge: « that for the suppression of neurogenic twitchings or contractions more calcium may possibly be required than for the suppression of myogenic twitchings ». [Circa l'azione delle sostanze che immobilizzano i calcioioni, ved. anche le poche ricerche mie ([32], [34]) e di Friedenthal ([33]), precedenti quelle classiche del Sabbatani].

Movimenti spontanei, contrazioni fibrillari di muscoli striati, sono stati però osservati sotto l'influenza di sostanze chimiche di natura affatto diversa, o in speciali condizioni, dai seguenti altri autori.

Fühner ([16]) e Camis ([17]) le constatarono sotto l'influenza della guanidina, che non agisce egualmente su tutti i muscoli di una stessa rana, nè in tutte le rane; la differenza concerne la rapidità nella produzione, la forza e la durata delle contrazioni. Infatti, la produzione dei movimenti è più facile se si inietta la sostanza nell'animale, anzichè se la si lasci agire sul muscolo isolato; i movimenti s'intensificano con l'aumentare della concentrazione della guanidina.

J. N. Langley ([18]) vide comparire contrazioni analoghe sotto l'influenza della nicotina. « When the sartorius — egli scrive a pag. 362 — is removed from the body and placed in dilute nicotine, the immediate and obvious effects are fibrillar twitchings and some more general contraction, with a certain degree of shortening of the muscle (*).

F. B. Hoffmann ([19]) le osservò in muscoli paralizzati, circa 100 giorni dopo il taglio dei nervi, nei rospi. Le contrazioni fibrillari potevano scorgersi benissimo attraverso la pelle. In un animale che fu tenuto in osservazione per un tempo più lungo (130 giorni), le contrazioni fibrillari cessarono di nuovo, apparentemente; ma, tolta la pelle, l'autore si accorse che erano solo divenute più deboli. L'A. aggiunge di non averle mai vedute in muscoli paralizzati di rana, e tende ad attribuire la differenza al diverso contenuto in sarcoplasma dei muscoli di rana e di rospo. L'A.

(*) Altri lavori di Langley, nei quali si parla di contrazioni muscolari ritmiche rapide saranno citati appresso.

finalmente ricorda che nella muscolatura linguale dei mammiferi appariscono contrazioni fibrillari dopo il taglio dell'ipoglosso, come già osservò M. Schiff ([20]); ed è notevole il fatto che, secondo le osservazioni di S. Mayer ([21]) e di Bleuler e Lehmann ([22]), le dette contrazioni fibrillari non cessano per l'azione del curaro.

Locke ([23]) osservò che l'ossalato di sodio (0,75 °/₀) produce nel muscolo sartorio di rana violente contrazioni; a lungo andare, il muscolo diventa ineccitabile; ma l'eccitabilità ritorna se si immerge il muscolo in un liquido contenente un sale solubile di calcio. Egli dice: « We have in the direct action of sodium oxalate on muscle the explanation in all probability of the ' fibrillares Muskelzucken ' and ' starkes Muskelzittern ' found by Robert and Küssner to be a symptom of sodium oxalate poisoning, and ascribed by them to an action on the central nervous system ». L'A. ha anche veduto che l'ossalato sodico determina, sui muscoli striati, effetti analoghi a quelli della veratrina e del solo cloruro sodico, e cioè: « contraction remainders, lengthened contractions, dicrotic contractions, and tetanus or tonuslike contraction ».

Più tardi, io ([24]) descrissi nel seguente modo l'azione dell'ossalato sodico: « Die mächtig erregende Wirkung des oxalsaueren Na auf die musculi gastrocnemii von *Rana esculenta* zeigt sich nicht nur durch eine kräftig primäre Contractur, die bisweilen durch eine reine, bisweilen durch eine gezähnte Curve dargestellt wird, aber man bemerkt auch auf der Curve der Contractur rhythmische Bewegungen, die in einigen Fällen einen überraschend regelmässigen Gang zeigen ». (Ved. tav. XIV, fig. 46 I, del lavoro originale). Simili contrazioni spontanee rapide io stesso osservai nei muscoli di rospi trattati con soluzioni di ioduro sodico. Il curaro non impedisce la comparsa delle contrazioni fibrillari. Secondo Zenneck ([25]), queste sarebbero, anzi, più violente nel muscolo curarizzato che non in quello normale; ma io non ho potuto confermare questo fatto: anzi ho veduto che, quando una differenza c'è nella reazione, essa è sempre a svantaggio del muscolo curarizzato.

I più cospicui e duraturi movimenti ritmici spontanei, più o meno regolari ed intensi, accompagnati in grado diverso da oscillazioni del tono, io però li ho osservati nei muscoli di rospo sottoposti all'azione della veratrina ([26]).

Movimenti spontanei furono osservati nei muscoli veratrinizzati, dopo di me, anche da Santesson ([27]) e da Henze ([28]); ma questi, come quelli descritti anche da Storey ([29]), hanno il carattere piuttosto di oscillazioni del tono, che non di rapide scosse muscolari.

Un lavoro molto accurato sui movimenti spontanei che provocano le soluzioni saline nei muscoli striati degli anfibii, è quello recente del Mines ([30]), dove si trova citata tutta la letteratura anteriore. Secondo Mines, « these movements often exhibit a definite rhythmus, wich while it persists is comparable in regularity to accepted physiological rhythmus such as that of the beating heart. Irregular tracings frequently prove on analysis to result from the mechanical interference of several rhythmic components. The ease with wich the twitches can be elicited by the use of 0,7 °/₀ Na Cl varies somewhat in muscles from different regions of the body, but by the perfusion of the blood vessels vith the solution the movements may be produced in the whole skeletal musculature. The periods of the rhythmus recorded

vary in different cases from 6″ to 0″,06 ». Secondo l'A., il curaro in dose moderata non abolisce le contrazioni spontanee; e quando agisce in dose forte, l'effetto che produce è dovuto al calcio e al potassio contenuti nelle sue ceneri. Mines non esita ad ammettere che « the source of the movements lies in the contractile substance of the muscle fibres », tanto più che il Ca ed il K esercitano la loro azione antagonistica rispetto al Na anche nella regione priva di terminazioni nervee e di placche motrici del sartorio.

Non v'ha dubbio che il fenomeno dei movimenti ritmici spontanei dei muscoli striati avvalora la teoria miogena delle pulsazioni cardiache, e rende legittima la supposizione che la differenza fra cuore e muscoli striati, per cui normalmente il primo è dotato di attività ritmica automatica e i secondi no, possa dipendere da una differenza nella loro composizione chimica per quanto riguarda i sali minerali.

A questo accenna anche il Mines; e aggiunge: « The truly rhythmic caracter of the movements taken in conjunction with the strong probability that they are myogenic, emphasises the fundamental similarity between the skeletal and cardiac muscle fibres of vertebrates ». Ma sulla analogia esistente fra le due attività ritmiche, e sulla possibilità che essa fosse utilizzata per chiarire la genesi dei moti ritmici del cuore, io ([31]) richiamai l'attenzione dei fisiologi qualche anno prima (*).

***

Nelle presenti ricerche sul preparato frenico-diaframmatico, ho avuto spesso occasione, come ho già detto, di osservare e registrare contrazioni ritmiche spontanee del medesimo; e più ne avrei osservate, se più spesso avessi voluto registrare tracciati muscolari a piccola velocità del cilindro. Infatti, è ovvio che, in questo caso, le contrazioni ritmiche spontanee appariscono evidenti sulle curve registrate a piccola velocità del cilindro, mentre sulle curve registrate a grande velocità esse possono, al più, apparire come ampie ondulazioni quando sono molto accentuate. Del resto, basta guardare il muscolo o la leva scrivente, per avvertire l'esistenza delle scosse fibrillari. Io le ho osservate sovente, senza curarmi di registrarle, quando esse non formavano oggetto particolare dei miei esperimenti. Per quanto riguarda le condizioni che determinano la comparsa delle contrazioni ritmiche e le oscillazioni del tono spontanee del preparato diaframmatico e i caratteri particolari che esse presentano, io posso riassumere brevemente nel seguente modo le conclusioni generali alle quali mi permettono di giungere le osservazioni da me fatte.

Le contrazioni ritmiche costituiscono, senza dubbio, un fenomeno abnorme, un fenomeno rivelante sempre uno stato di abnorme eccitabilità del preparato neuromuscolare. Infatti, io ho veduto diminuire i casi di loro occorrenza, a misura che in questi anni son venuto perfezionando la tecnica per l'allestimento del preparato frenico-diaframmatico. Essendo finalmente riuscito, mediante la uccisione per decapitazione dell'animale, a evitare quasi sempre il violento tetano o la contrattura del diaframma *in situ*, ho veduto diminuire di molto i casi in cui si presentano le con-

(*) Ved., per altre notizie sui movimenti ritmici, il mio scritto: *Sulla ritmicità del moto del cuore e sulle sue cause.* (*Del ritmo nei fenomeni biologici*). Lo Sperimentale, LI, fasc. 2°, 1897. (Ved. pagg. 16-19 dell'estratto).

trazioni ritmiche del muscolo prima e dopo la immersione di esso nel liquido di Ringer. Quando il diaframma si trova del tutto rilassato al momento in cui ci si accinge a tagliarne la striscia del preparato, e non si contrae nè durante l'allestimento di questa, nè quando lo si immerge nel liquido di Ringer, si può esser quasi sicuri che, se ad altre influenze il muscolo non viene assoggettato, contrazioni ritmiche automatiche non compariscono per tutta la durata della sua sopravvivenza.

Tutte le azioni capaci di abbreviare la sopravvivenza del preparato neuro-muscolare -- e specialmente di determinare in esso quella alterazione per cui, dopo un breve periodo di esaltazione funzionale, gli eccitamenti, sorti nel nervo in seguito a stimolazioni di esso, non si propagano al muscolo, benchè questo rimanga eccitabile — favoriscono la comparsa delle contratture con oscillazioni del tono e delle contrazioni ritmiche spontanee. Alcune di tali azioni posso qui enumerare. Ho accennato ai tetani violenti e alla contrattura del diaframma, durante la morte dell'animale. Ricorderò ancora l'influenza che esercitano l'asfissia; il passaggio repentino della temperatura del corpo a una, troppo bassa, dell'aria ambiente, e poi, da questa, alla temperatura, già alta, del liquido di Ringer; il disseccamento per evaporazione del nervo e del muscolo. Vengono poi le azioni dei veleni, che o fanno apparire o intensificano le contrazioni ritmiche automatiche (*); la composizione abnorme o l'abnorme concentrazione del liquido, in cui il muscolo è immerso; la deficienza dell'ossigeno la temperatura del bagno ecc. Debbo però rammentare, che in parecchi casi le contrazioni ritmiche si presentarono e durarano per molto tempo, senza che io potessi attribuirle a una qualunque delle cause ora enumerate, e quando tutto faceva prevedere che non si sarebbero verificate.

Fenomeni concomitanti alla comparsa o all'intensificarsi dell'attività ritmica nel preparato frenico-diaframmatico sono i seguenti. Generalmente, insieme con le contrazioni ritmiche il muscolo presenta una tendenza più o meno spiccata ad accorciarsi tonicamente, ed è più o meno accorciato; al cessare dell'attività ritmica il muscolo torna generalmente ad allungarsi. I due fenomeni, però, non sono sì intimamente insieme collegati da giustificare l'opinione che gli accorciamenti tonici del muscolo risultino esclusivamente o sieno effetto solo della soprapposizione delle singole contrazioni rapide e ritmiche, ossia che essi corrispondano a tetani incompleti. Infatti, se ciò fosse, non si comprenderebbe l'esistenza di contrazioni rapide in nulla differenti dalle altre, su curve declinanti di tonicità, ossia mentre il muscolo lentamente si allunga dopo un gagliardo accorciamento tonico. Le contrazioni ritmiche non sono mai tanto frequenti da sovrapporsi. Un altro fatto degno di essere ricordato è che, quando il muscolo si trova in attività ritmica accentuata, per lo più esso, eccitato con stimoli unici eseguisce non una contrazione semplice, ma una contrazione doppia. Però, su questo fenomeno tornerò appresso.

Se è vero che alcune volte la comparsa delle contrazioni ritmiche annunzia la prossima cessazione della conduttività neuro-muscolare, non è men vero che durante l'attività ritmica per lo più l'eccitabilità e la contrattilità del preparato freno-diaframmatico si presentano esaltate, e che altre volte esse durano per molto tempo.

(*) Ved. il capo seguente.

È questo il periodo, in cui si sogliono ottenere, mediante stimolazioni ritmiche del nervo o del muscolo, le più alte contrazioni muscolari e le contrazioni caratterizzate, nel tracciato grafico, da un altipiano ondulato seguente alla cuspide della contrazione rapida primaria: vale a dire le contrazioni multiple (*).

Cessato il periodo dell'attività ritmica, la conduttività neuro-muscolare si presenta o del tutto abolita, o solo depressa, per cessare poi del tutto dopo qualche tempo. Quindi il preparato neuro-muscolare si presenta come curarizzato, e può in realtà ritenersi tale. Siccome la conduttività neuro-muscolare non cessa mai d'un tratto, ma si presenta prima più o meno depressa, e poi scomparisce del tutto, si può ammettere che il processo, per così dire, di curarizzazione, probabilmente invade tutte le giunzioni contemporaneamente a grado a grado.

Io credo che non sia impossibile formulare, almeno in via provvisoria, una spiegazione unica per tutti i casi osservati di contrazioni ritmiche automatiche, di contratture con oscillazioni del tono o senza, e di esaltazione transitoria della eccitabilità, occorrenti nei preparati neuro-muscolari.

Stabilito il fatto che i detti fenomeni non si presentano quando la conduttività neuro-muscolare è del tutto abolita, e che anzi spesso, mentre essi sono in piena efficienza, la conduttività neuro-muscolare, e in generale l'eccitabilità del preparato, si presenta esaltata, io non sarei alieno dal credere che la genesi delle contrazioni ritmiche automatiche e dell'accorciamento tonico iniziale, nel maggior numero dei casi in cui io li ho osservati, sia da cercarsi in cangiamenti localizzabili nelle giunzioni neuro-muscolari. Come ciò possa avvenire, dirò a suo luogo, dopo che avrò recato altre prove a sostegno della mia ipotesi.

Un fatto resulta costantemente da queste mie osservazioni: ed è che, per quanto si faccia, la sopravvivenza delle giunzioni neuro-muscolari nei preparati degli animali omeotermi è, salvo casi rari, relativamente breve, là dove quella del muscolo dura, ordinariamente, per molte ore di seguito. In ciò esiste una differenza notevole fra i preparati omeotermi e quelli degli animali pecilotermi. Ma questo, che sembra essere uno svantaggio, lo è solo in quanto obbliga a sacrificare un numero grandissimo di animali (io ne ho finora sacrificati a centinaia). Per il resto, presentandosi i fenomeni in rapida successione nei preparati degli animali omeotermi (i fenomeni, dico, che si svolgono dal momento dell'allestimento del preparato a quello in cui alle stimolazioni del nervo il muscolo più non risponde), riesce meno difficile di dominarne lo svolgimento e indagarne le cause. La coincidenza dell'aumento dell'eccitabilità generale con la comparsa delle contrazioni ritmiche automatiche e dell'automatico accorciamento tonico, talora accompagnato da oscillazioni del tono, e la constatazione che i tre fenomeni, quando si presentano insieme, per lo più annunziano prossima l'alterazione irreversibile delle giunzioni neuro-muscolari, che si manifesta col blocco egl'impulsi nervei, sono fatti che potevano essere bene accertati solo in preparati di animali omeotermi, appunto perchè in questi si svolgono con rapida successione, non ostante che siano mantenuti nelle migliori condizioni sperimentali che la tecnica fisiologica oggi consiglia.

(*) Ved. a questo proposito un'altra mia prossima pubblicazione.

A che cosa sia dovuta la rapida morte delle giunzioni neuro-muscolari, è impossibile dire con sicurezza, per ora. L'ossigeno fatto gorgogliare abbondantemente, non vale a ritardarla; e nemmeno il cambiare il liquido di Ringer e il mantener questo a una temperatura un poco inferiore a quella del corpo. Questo espediente serve solo a ritardarne un poco la morte. Noi non conosciamo la composizione chimica nè la costituzione chimico-fisica delle sostanze che formano il sostrato morfologico della cosiddetta placca motrice. Ma l'ipotesi più verosimile, che si può fare, mi sembra questa: che in condizioni di sopravvivenza, essendo cessata la circolazione del sangue, l'ossigeno gorgogliante per il liquido di Ringer e le sostanze in questo liquido sciolte non sono sufficienti ad impedire che i prodotti dell'attività funzionale, o solo dei processi metabolici di riposo, si accumulino e provochino un'alterazione irreversibile nelle giunzioni neuro-muscolari. In queste deve esistere una sostanza labilissima, la cui labilità si rivela non solo con la capacità di reagire a stimoli elettrici relativamente più deboli e di risentire l'azione di sostanze chimiche in dose relativamente minore, ma anche nella estrema difficoltà che s'incontra a mantenerla eccitabile durante la sopravvivenza. Non sempre i suoi cambiamenti sono irreversibili. Per es., come vedremo, l'acido carbonico determina un blocco transitorio al passaggio degl'impulsi nervei, che l'ossigeno elimina. Ma nel maggior numero dei casi, il blocco è definitivo, cioè l'alterazione delle giunzioni si dimostra irreversibile.

Abbiamo veduto che fenomeni tonici di considerevole durata si presentano nel preparato frenico-diaframmatico. Ammesso che il tono normale della muscolatura striata degli animali superiori e dell'uomo sia di natura esclusivamente nervosa centrale, cioè riflessa, per quanto riguarda gl'impulsi che lo determinano, non si può tuttavia escludere l'esistenza d'un tono d'origine periferica. Gl'impulsi che generano i fenomeni tonici da noi osservati si generano, o nel nervo troncato, o nelle giunzioni neuro-muscolari, e ci sono rivelati dalle contrazioni ritmiche che eseguisce il muscolo. Ma poichè queste non possono per sovrapposizione meccanica generare l'accorciamento tonico, che talora esiste indipendentemente da quelle, e non presenta alcuna proporzione con esse, è necessario ammettere che gli stessi impulsi, si generino essi nel tronco nervoso tagliato o nelle giunzioni neuro-muscolari, non ostante la loro piccola frequenza siano capaci di generare, in uno speciale materiale contrattile delle fibre muscolari, l'accorciamento tonico, e in un altro materiale contrattile le contrazioni rapide.

Che per ottenere la contrattura, cioè la sovrapposizione e fusione delle contrazioni toniche, occorra una frequenza di stimoli assai minore che per ottenere il tetano, è cosa ovvia. Nessuna maraviglia, quindi, che i detti impulsi, deboli e rari a giudicare dall'altezza delle contrazioni rapide ritmiche e dalla loro frequenza, siano capaci di determinare un accorciamento tonico talora assai cospicuo e duraturo.

L'esplorazione elettrica del tronco nervoso reciso è, però, indispensabile per decidere se la causa dei fenomeni motori automatici sopra descritti sia da cercarsi:

1°) in una stimolazione continua del nervo derivante dalla corrente di demarcazione del medesimo (il liquido di Ringer opererebbe da conduttore per chiudere il circuito), stimolazione continua che determinerebbe nel muscolo, come spesso accade, fenomeni motori ritmici;

2°) o in stimoli ritmici (?) del nervo, sincroni con le contrazioni ritmiche rapide;

3°) o invece in eccitamenti ritmici sorgenti automaticamente nelle più eccitabili sostanze delle giunzioni neuro-muscolari.

Certo è che l'integrità di queste è indispensabile perchè si manifesti tanto il tono muscolare fisiologico d'origine centrale riflessa, quanto il tono del preparato neuro-muscolare separato dal corpo, quel tono che ho chiamato automatico nel senso che non è provocato da stimoli esterni intenzionalmente applicati al nervo o al muscolo.

Ora io credo che l'ufficio spettante alle giunzioni neuro-muscolari nella genesi del tono fisiologico dei muscoli striati consista in ciò: che sostanze estremamente eccitabili, facenti parte di esse, sono eccitate da impulsi discendenti per i nervi, verosimilmente per via riflessa, i quali impulsi sono tanto deboli e così poco frequenti, ammesso che siano discontinui, da non provocare affatto contrazioni rapide delle fibre muscolari, pur essendo sufficienti a provocare una lieve contrattura durevole.

Questa contrattura, o questo tono durevole, esiste però non solamente nella ordinaria muscolatura striata, che funziona aperiodicamente, ma anche nel diaframma, che compie incessantemente brevi e ritmiche contrazioni tetaniche; nel cuore che compie pure incessantemente contrazioni ritmiche; e, in grado maggiore, poi, in tutti gli organi muscolari lisci. Infatti, per rammentare il solo caso del cuore o dell'esofago (ingluvie) di *Aplysia*, è noto che, quando per un certo tempo cessa l'attività ritmica automatica, durante l'arresto diminuisce anche il tono generale del preparato, che poi torna ad elevarsi coll'iniziarsi del nuovo gruppo di contrazioni automatiche. In altre parole, le contrazioni riflesse o volontarie dei muscoli striati, i tetani ritmici del diaframma, le sistoli del cuore, le contrazioni pendolari del tubo intestinale, le contrazioni ritmiche dell'esofago del pulcino etc., sono sempre inscritte sopra una linea di tonicità relativamente alta, cioè superiore a quella che corrisponderebbe allo stato di completa e totale distensione del rispettivo muscolo: e ciò è dovuto alle giunzioni neuro-muscolari, per le ragioni dianzi dette.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ved. cap. I, cit. 51.

(2) Ved. cap. I, cit. 52.

(3) Ved. cap. I, cit. 50.

(4) W. Biedermann, loc. cit., pagg. 90-91.

(5) F. S. Locke, *Die Wirkung der physiologischen Kochsalzlösung auf quergestreiften Muskeln.* Pflüger's Arch., LIV, pag. 501, a. 1893.

(6) Dr. Carlslaw, *Die Beziehungen zwischen der Dictigkeit und den reizenden Wirkungen der NaCl-Lösungen.* Arch. f. (Anat. u.) Physiol., a. 1887, pag. 430.

(7) W. Biedermann, *Ueber rhythmische, durch chemische Reizung bedingte Contractionen quergestreifter Muskeln.* Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. (3 Abt.), LXXXII, a. 1880, pag. 257.

(8) W. H. Howell, *On the relation of the blood to the automaticity and sequence of the heart beat.* Amer. Journ. of physiol, II, pag. 47, a. 1898.

(9) R. H. True, *Physiological action of certain plasmolyzing agents.* Botan. Gaz., XXVI, a. 1898.

(10) J. Loeb, *Ueber Ionen welche rhythmische Zuckungen der Skelettmuskeln hervorrufen.* Festschr. f. Prof. A. Fick. Braunschweig, a. 1899, pag. 101.

(11) J. Loeb, *On ion-proteid compounds and their rôle in the mechanics of life-phenomena. I. The poisonous character of a pure NaCl-solution.* Amer. Journ. of Physiol., III, pag. 327, a. 1900.

(12) J. Loeb, *On the different effects of ions upon myogenic and neurogenic rhythmical contractions and upon embryonic and muscular tissue.* Amer. Journ. of physiol., III, pag. 383, a. 1900.

(13) J. Loeb, *The production of muscular twitchings.* Tho decenn. public. of the Univ. of Chicago, X, 1902. (Estratto).

(14) L. Sabbatani, *Funzione biologica del calcio.* I-II. Mem. d. R. Accad. d. scienze di Torino (2), LI, pag. 267, a. 1901; LII, pag. 213, a. 1902. — Idem, *Azione del citrato trisodico ed importanza del calcio-ione.* Il Policlinico, IX-M, a. 1902. (Estratto). — Idem, *Il calcio-ione degli organi.* Riv. crit. di clin. med., III, n. 29, a. 1902.

(15) D. J. Lingle, *The action of certain ions on ventricular muscle.* Amer. Journ. of physiol., IV, pag. 265, a. 1900.

(16) H. Fühner, *Curarestudien. I. Die periphere Wirkung des Guanidins.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., LVIII, pag. 1, a. 1908.

(17) M. Camis, *Physiological and histological observations on muscle chiefly in reation to the action of guanidine.* Journ. of physiol., XXXIX, pag. 73, a. 1909.

(18) J. N. Langley, *On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of receptive substances.* Parte I. Journ. of physiol., XXXVI, pag. 347, a. 1907.

(19) F. B. Hofmann, *Nervenendorgan und Muskelfaser.* Medizin. Klin., 1909, nn. 38-39. (Estr., pag. 12).

(20) M. Schiff, *Lehrbuch der Physiologie des Menschen.* I: *Muskel- und Nervenphysiologie,* pagg. 188 e segg. Lahr, 1858.

(21) S. Mayer, *Resultate meiner fortgesetzten Untersuchungen über Hemmung und Wiederherstellung des Blutstromes im Kopfe.* Med. Zentr., 1878, pag. 579. — Idem, *Ueber einige Bewegungserscheinungen an quergestreiften Muskeln.* Prag. med. Woch., 1881, pag. 1.

(22) E. Bleuler und K. Lehmann, *Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie.* Pflüger's Arch., XX, pag. 354, a. 1879.

(23) F. S. Locke, *The action of sodium oxalate on voluntary muscle.* Journal of physiol., XV pag. 119, a. 1894. (Il lavoro non contiene figure).

(24) Fil. Bottazzi, *Ueber die Wirkung des Veratrins und anderer Stoffe auf die quergestreifte, atriale und glatte Musculatur.* (*Beiträge zur Physiologie des Sarkoplasmas*). Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1901, pag. 413.

(25) G. Zenneck, *Ueber die chemische Reizung nervenhaltiger und nervenloser* (*curarisirter*) *Skelettmuskeln.* Pflüger's Arch., LXXVI, pag. 21, a. 1899.

(26) Fil. Bottazzi, *Recherches sur les mouvements automatiques des divers muscles striés.* Journ. de physiol. et de path. génér., 1906, pag. 193.

(27) C. G. Santesson, *Einiges über die Wirkung des Glycerins und des Veratrins auf die Muskelsubstanz* etc. Vortrag an der Versamml. norddeut. Naturforsch. und Aerzte zu Helsingfors, 8 Juli 1902. — Idem, *Eigenthümliche Tonusschwankungen der Veratrincontractur beim Frosch.* Centr. f. Physiol., XVI, pag. 225, 19 Juli 1902. — Idem, *Einiges über die Wirkung des Glycerins und des Veratrins auf die quergestreifte Muskelsubstanz im Frosch.* Skand. Arch. f. Physiol., XIV, pag. 1, a. 1913.

(28) M. Henze, *Der chemische Demarkationsstrom in toxikologischer Bezichung.* Pflüger's Arch., XCII, pag. 451, a. 1902.

(29) Th. A. Storey, *Tonus rhythms in normal human muscle and in the gastrocnemius of the cat.* Amer. Journ. of physiol., XIII, pag. 74, a. 1905.

(30) G. R. Mines, *On the spontaneous movements of amphibian skeletal muscle in saline solutions, with observations on the influence of potassium and calcium chlorides on muscular excitability.* Journ. of physiol, XXXVII, pag. 408, a. 1908.

(31) Fil. Bottazzi, *Ricerche sulla musculatura cardiale dell' « Emys europaea ».* Zeit. f. allg. Physiol., VI, pag. 140, a. 1906.

(32) Fil. Bottazzi, *Sull'azione fisiologica dei saponi.* Riv. di sc. biol., II, nn. 4-5, a. 1900. — Idem, *Circa alla « funzione biologica del calcio ».* Riv. crit. di clin. med., III, n. 25, 21 giugno 1902, pag. 503.

(33) H. Friedenthal, *Ueber die Giftwirkung der Seifen und der anderen kalkfällenden Mitteln.* (Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin, Sitz. am 9 November 1900). Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1901, Hefte I-II.

(34) Fil. Bottazzi, *Sur la toxicité des solutions aqueuses des savons sodiques.* Arch. ital. de biol., XXXII, pag. 174, a. 1899.

CAPO V.

Azione di alcune sostanze chimiche sulla contrattilità, sulla conduttività neuro-muscolare e sul tono del preparato frenico-diaframmatico.

L'indagine dell'azione fisiologica di varie sostanze ho distinto in due parti: una, che si riferisce alle variazioni del tono (fenomeni di contrattura, ecc.), e della eccitabilità del preparato frenico-diaframmatico; l'altra, che riguarda le modificazioni che la contrazione del muscolo, provocata da stimoli unici di corrente indotta, presenta sotto l'influenza di questa o quella sostanza. Rimando la trattazione di quest'ultima parte ad altra pubblicazione, e qui riassumo brevemente i resultati delle mie ricerche riguardanti i fenomeni di contrattura e le variazioni della generale contrattilità e della conduttività neuro-muscolare, che il preparato frenico-diaframmatico presenta spontaneamente o quando è esposto all'azione di abnormi condizioni esteriori o di alcuni veleni, quali la veratrina, la nicotina ecc., o di sostanze chimiche di natura diversa.

Gli esperimenti, di cui qui riferisco i risultati, furono fatti tutti nello stesso modo. Immerso il preparato neuro-muscolare in un volume noto di liquido di Ringer, ad una data temperatura registravo un pezzo di tracciato sul cilindro rotante a piccola velocità, esplorando l'eccitabilità, il tono e le variazioni di esso, nonchè osservando le contrazioni ritmiche spontanee del preparato, quando le presentava. A un certo momento, aggiungevo al liquido di Ringer il veleno in quantità nota, una o più volte successivamente, e ne registravo gli effetti, sempre sullo stesso cilindro: cioè tornavo ad esplorare, ad intervalli, mediante stimoli di corrente indotta unici o ripetuti, l'eccitabilità, e ponevo mente se il muscolo si accorciava o si allungava, lentamente o subito dopo l'aggiunta del veleno ecc.

Descrivo, coll'aiuto di alcuni fra i molti tracciati ottenuti, gli effetti osservati per ciascuna sostanza sperimentata, o per ciascuna condizione abnorme, in cui il preparato era messo.

I. *Azione tonica e inibizione del tono determinate da stimoli elettrici ritmici o dalla corrente continua.*

Prima d'iniziare lo studio della influenza che esercitano le varie sostanze sul preparato frenico-diaframmatico, io debbo descrivere alcuni fenomeni che si osservano durante la stimolazione elettrica di esso, sia ritmica sia continua, indipendentemente dall'aggiunta, al liquido di Ringer di qualsiasi sostanza estranea. I fenomeni sono i seguenti.

(*a*) Se il muscolo presenta un certo accorciamento tonico durevole, con oscillazioni del tono e contrazioni ritmiche rapide automatiche, le stimolazioni ritmiche del nervo (*N*) provocano dapprima un progressivo abbassamento del tono, che poi tende ad elevarsi di nuovo, come dimostra la fig. 10.

Il muscolo era tutto immerso nel liquido di Ringer, da cui emergeva il solo nervo adagiato sugli elettrodi. Alcuni minuti prima che s'iniziassero le stimolazioni, fu aggiunto al liquido di Ringer un po' di atropina (0,5 cm³ di una soluz. 5 % di solfato): come si vede, questo alcaloide non esercitò in questo caso alcuna influenza degna di nota sul preparato frenico-diaframmatico.

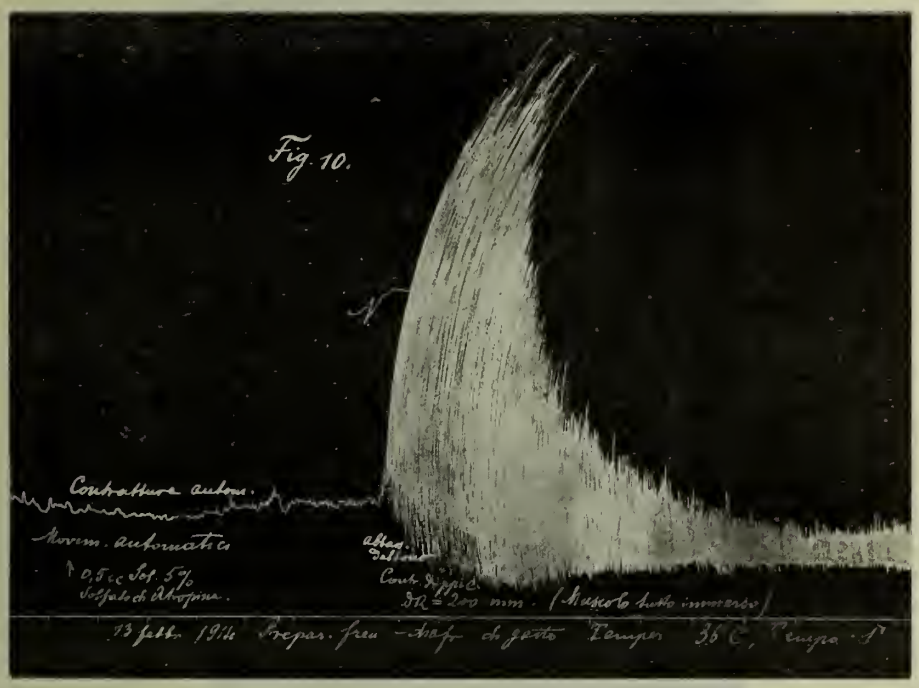


Fig. 10; 13 febbraio 1914. — Prepar. frenico-diafr. di gatto. Stimolazioni del nervo: 2 accum.; DR = 200 mm.; frequenza degli stimoli = 44 al 1'; peso = gr. 6; temper. = 36°C.; tempo 1'. (Riduz. fotografica).

(*b*) Se, invece, il muscolo si trova in stato di normale allungamento, le stimolazioni, sia del nervo (fig. 11), sia del muscolo (fig. 12), possono provocare una cospicua contrattura, come avvenne nei due esperimenti ai quali si riferiscono le figg. 11 e 12, e in altri diversi.

(*c*) Spesso, però, le stimolazioni dirette del muscolo provocano, prima un abbassamento del tono, e poi una contrattura, come si vede nel tracciato della fig. 13

(*d*) Frequentemente le prime stimolazioni, sia del nervo (fig. 14), sia del muscolo (fig. 15), provocano contrazioni i cui apici formano una « scala ». Il « fenomeno della scala » nel preparato diaframmatico è più o meno cospicuo, così per altezza come per durata, ma raramente fa difetto: anzi, nel preparato fresco non

manca quasi mai. Però di esso mi occuperò particolarmente in un'altra prossima pubblicazione.

Degno di nota è il fatto, che il fenomeno della scala può coincidere tanto con un abbassamento iniziale, quanto con un iniziale innalzamento del tono. Sembra, tuttavia, essere più duraturo nei casi in cui il preparato non subisce, sotto l'influenza delle stimolazioni ritmiche, profonde variazioni del tono.

Fig. 11; 12 genn. 1914. — Prepar. fren.-diafr. di gatta del peso di kg. 3,020: prep. destro. Stimolaz. del nervo: 5 accum.; DR = 100 mm.; frequenza = 132 stim. al 1'; peso = gr. 10; tutto il preparato era immerso nel liquido di Ringer, compreso il nervo adagiato sugli elettrodi; temper. = 34°C.; tempo = 1'. (Grand. naturale).

(*e*) I tracciati delle figg. 10-15 non sono altro, in fondo, che le parti iniziali di altrettante « curve di fatica ». I tracciati delle figg. 10, 11 e 14 rappresentano curve di fatica prodotte con stimolazioni del nervo, cioè di fatica delle giunzioni neuro-muscolari. Quelli delle figg. 12, 13 e 15 rappresentano segmenti di curve di fatica prodotte con stimolazioni dirette del muscolo, gli elettrodi essendo fissati alle due estremità del muscolo, e questo essendo o tutto (fig. 12) scoperto, o per una metà (fig. 13) o per $^1/_5$ (fig. 15) immerso nel liquido di Ringer.

Ebbene, come era da aspettarsi, le curve di fatica delle giunzioni neuro-muscolari sono brevissime, perchè le contrazioni presto diminuiscono di altezza e poi si riducono tanto da potersi considerare, come verso l'estremità destra della fig. 14, quasi come del tutto mancanti. Invece le curve di fatica del muscolo stimolato direttamente sono assai lunghe.

Ma non è del fenomeno della fatica che io voglio occuparmi, ora; esso forma oggetto di ricerche speciali, che saranno pubblicate separatamente. Voglio solo aggiun-

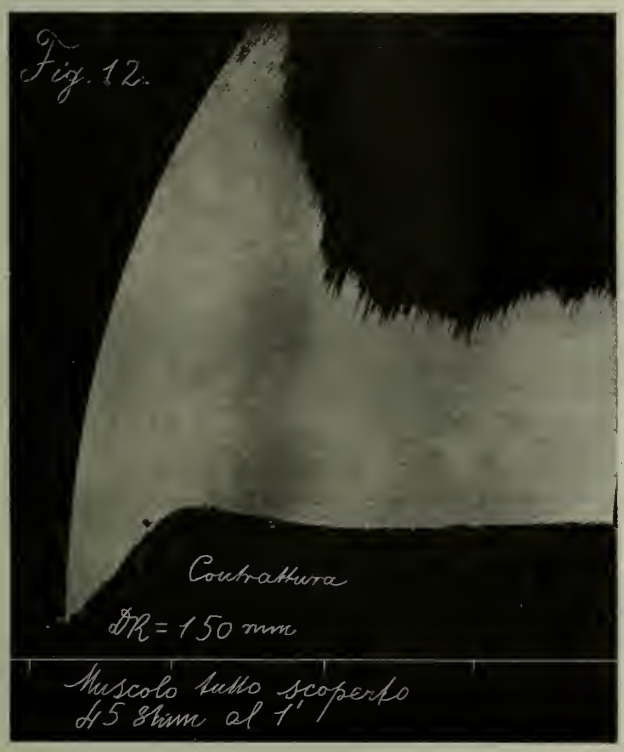


Fig. 12; 10 genn. 1914. — Prepar. fren.-diafr. di cane, già da parecchio tempo in attività. Il muscolo è tutto scoperto. Stimol. dirette del muscolo: 1 accum.; DR = 150 mm.; frequenza = 45 al 1'; peso gr. 10; temper. = 32°C.; tempo = 5' (Grand. naturale).

gere, che le porzioni iniziali di tutte queste curve di fatica differiscono notevolmente da quelle che sogliono essere ottenute dai muscoli di rana, fra l'altro, per l'intensità con cui nel preparato diaframmatico si presentano i fenomeni tonici, e specialmente per la contrattura che spesso si vede sulla curva di fatica, la quale per essa acquista una impronta caratteristica.

(*f*) La corrente elettrica costante (generata da 1-3 accumulatori) provoca nel preparato frenico-diaframmatico del cane i seguenti fenomeni (figg. 16, 17 e 18):

α) Rapida contrazione, al momento della chiusura, seguìta da contrazioni ritmiche più o meno numerose e cospicue. Del resto, ondulazioni poco accentuate si veggono su tutta la curva della contrattura.

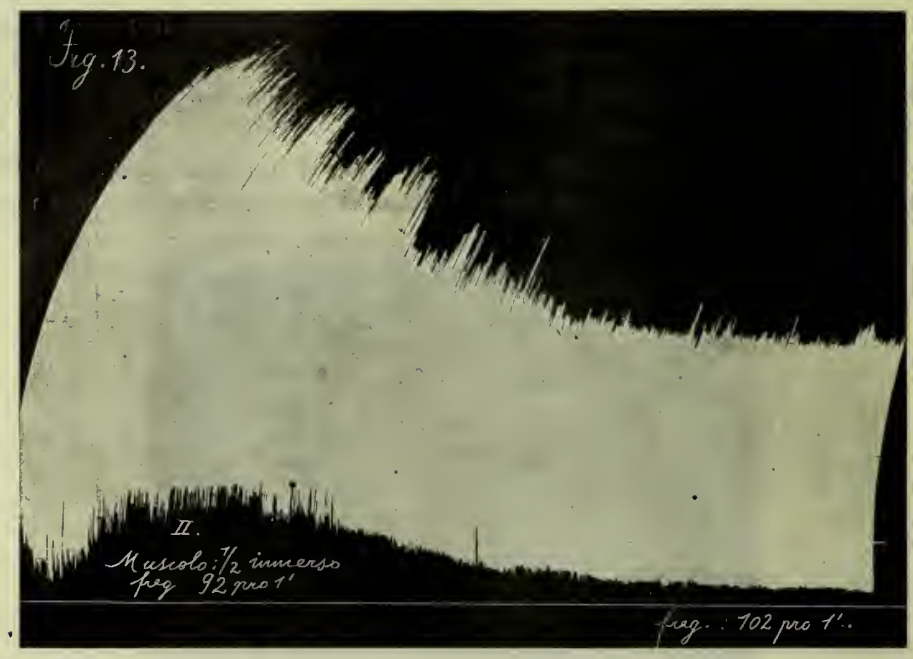


Fig. 13; 21 genn. 1914. — Prepar. fren.-diafr. destro di piccola cagna, del peso di kg. 3,400. Temperat. = 31°C.; tempo = 1′; peso gr. 6. Stimol. dirette dal muscolo immerso solo per metà: 1 accum.; DR = 100 mm.; frequenza = da 92 a 102 per 1′ (Riduz. fotografica).

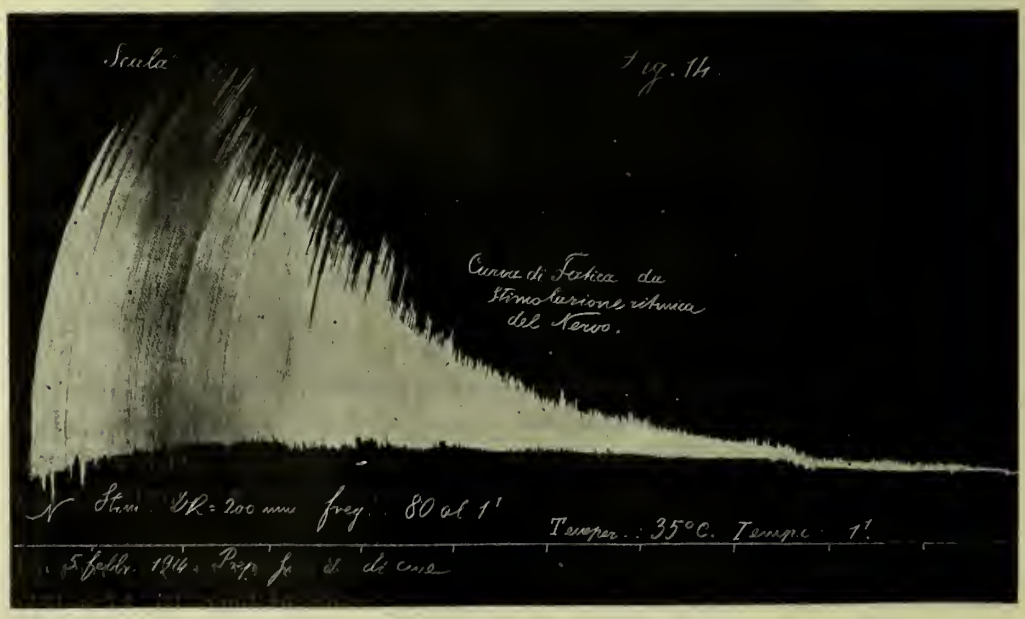


Fig. 14; 5 febbr. 1914. — Prep. fren.-diafr. destro di cane; temper. = 35°C.; tempo = 1′. Stimolazioni del nervo (*N*): 1 accum., DR = 200 mm.; frequenza = 80 al 1′; peso = gr. 6 (Riduz. fotografica).

β) Contrattura permanente per tutto il tempo del passaggio della corrente. Essa è più o meno vigorosa secondo che la corrente è più o meno forte (fig. 16). Differisce alquanto, nella forma secondo che si stimola il nervo (*N*) o il muscolo (*M*), nel senso che le contrazioni ritmiche sull'altipiano contratturale in alcuni casi sono più accentuate quando si stimola il muscolo, che non quando si stimola il nervo. Importante mi sembra il fatto che, ripetendo le applicazioni della corrente costante al muscolo, giunge un momento in cui le contratture si riducono tanto (fig. 18), da scomparire poi quasi del tutto, pur manifestandosi sempre le contrazioni ritmiche

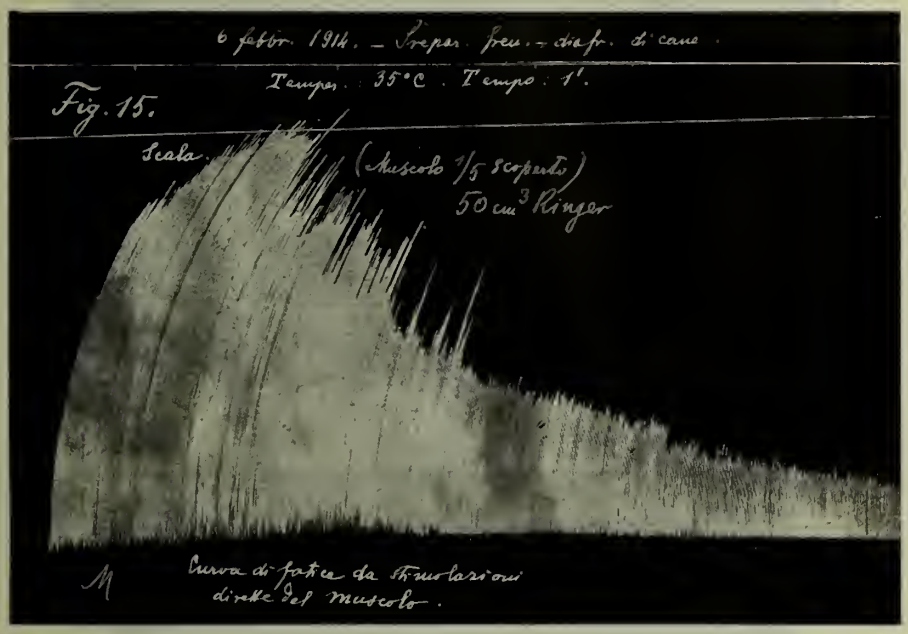
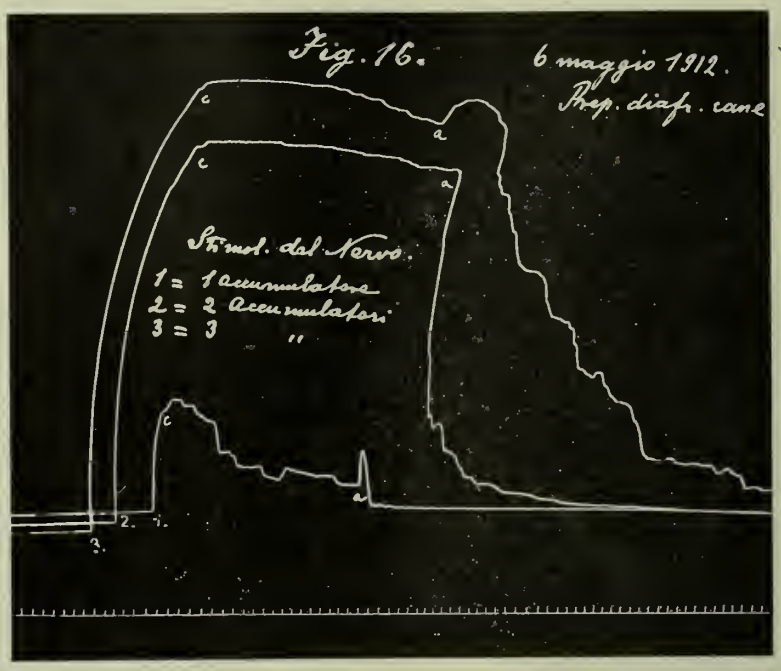


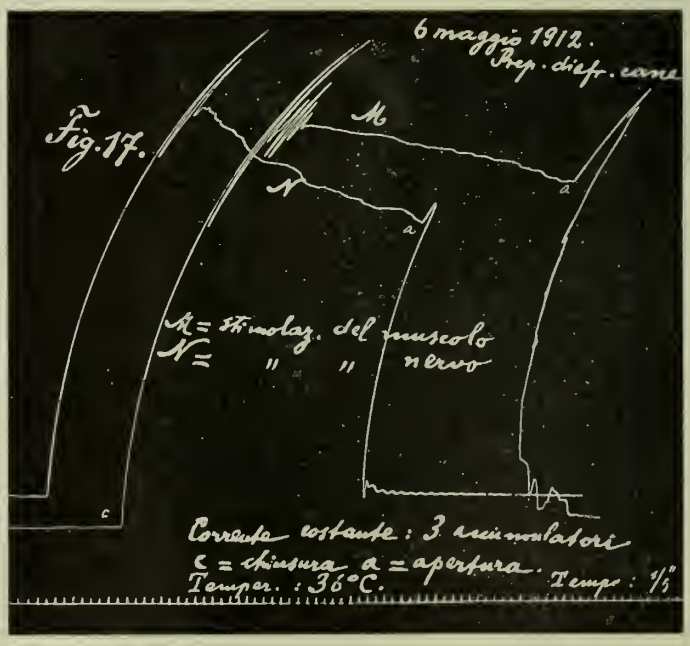
Fig. 15; 6 febbr. 1914. — Prepar. fren.-diafr. di cane. Temper. = 35°C.; tempo = 1'; peso = gr. 6. Stimolazioni dirette del muscolo immerso per $^4/_5$ della sua lunghezza nel liquido di Ringer: 1 accum.; DR = 100 mm.; frequenza = 80 al 1' (Riduz. fotografica).

alla chiusura e alla apertura, non che durante tutto il tempo del passaggio della corrente.

γ) Contrazione d'apertura, seguìta da allungamento del muscolo, il quale è tanto meno rapido quanto più forte è la corrente, e che è accompagnato anch'esso, come la contrattura, da contrazioni rapide o da ondulazioni della curva, che durano un pezzo; il che dimostra che l'azione dolla corrente oltrepassa in durata il momento dell'apertura del circuito, anche quando la corrente non è eccessivamente forte (1 accumulatore).

Su questi fenomeni tonici o d'inibizione del tono, che si manifestano sotto la influenza delle stimolazioni ritmiche o continue; sulla comparsa di rapide contrazioni ritmiche non provocate da sincrone stimolazioni elettriche; e sulle variazioni di altezza che presentano quelle provocate da stimolazioni ritmiche, io dovevo, come ho già





Figg. 16 e 17; 6 maggio 1912. — Prepar. fren.-diafr. di cane. Stimolazione con corrente continua del nervo (N) o del muscolo (M), di breve durata; c = chiusura; a = apertura; fra c ed a, passaggio continuo della corrente; temper. = 36°C.; tempo = $^1/_5$ di secondo. (Grandezza naturale).

fatto nel capitolo precedente per quanto riguarda le contrazioni ritmiche e le contratture dette automatiche, richiamare, sebbene brevemente, l'attenzione del lettore, perchè in seguito avremo occasione di osservare effetti analoghi causati specialmente dall'azione delle sostanze chimiche sperimentate.

Circa la spiegazione dei fenomeni tonici ora descritti, essa non credo possa essere diversa da quella dei fenomeni analoghi che si manifestano spontaneamente o che sono effetto, come appresso vedremo, dell'azione di alcune sostanze; e per ciò anche di essi mi occuperò in seguito.

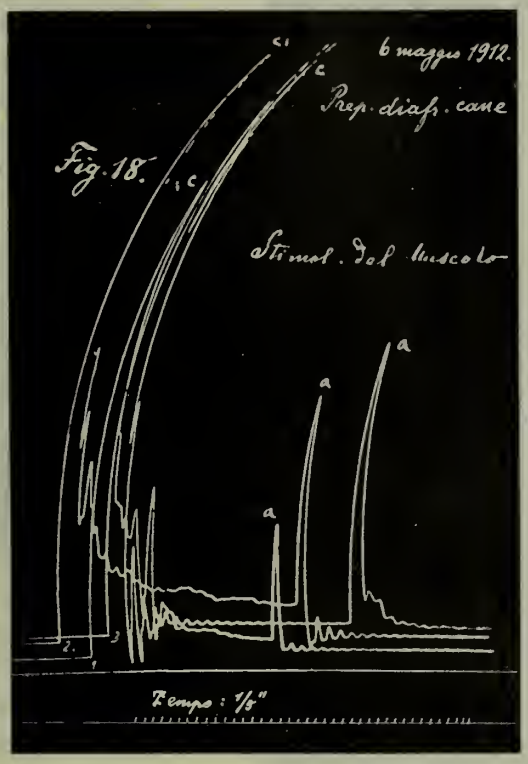


Fig. 18; 6 maggio 1912. — Prepar. fren.-diafr. di cane. Stimolazione con corrente continua del nervo (*N*) o del muscolo (*M*), di breve durata; *c* = chiusura; *a* = apertura; fra *c* ed *a*, passaggio continuo della corrente; temper. = 36°C.; tempo = $^1/_5$ di secondo. (Grandezza naturale).

II. *Azione dell'acqua distillata e delle soluzioni ipertoniche.*

1) Azione dell'acqua distillata. — Un preparato diaframmatico di cane, immerso in liquido di Ringer ossigenato, alla temperatura di 37°-38°, si presentava eccitabile, come dimostrano le contrazioni provocate in *a* sul tracciato della fig. 19. In *1* si sostituisce al liquido di Ringer acqua distillata, già riscaldata alla temperatura del termostato. Subito il muscolo comincia ad accorciarsi. L'accorciamento è fortissimo. Esplorata, in *2*, l'eccitabilità, si trova il muscolo ineccitabile. L'accor-

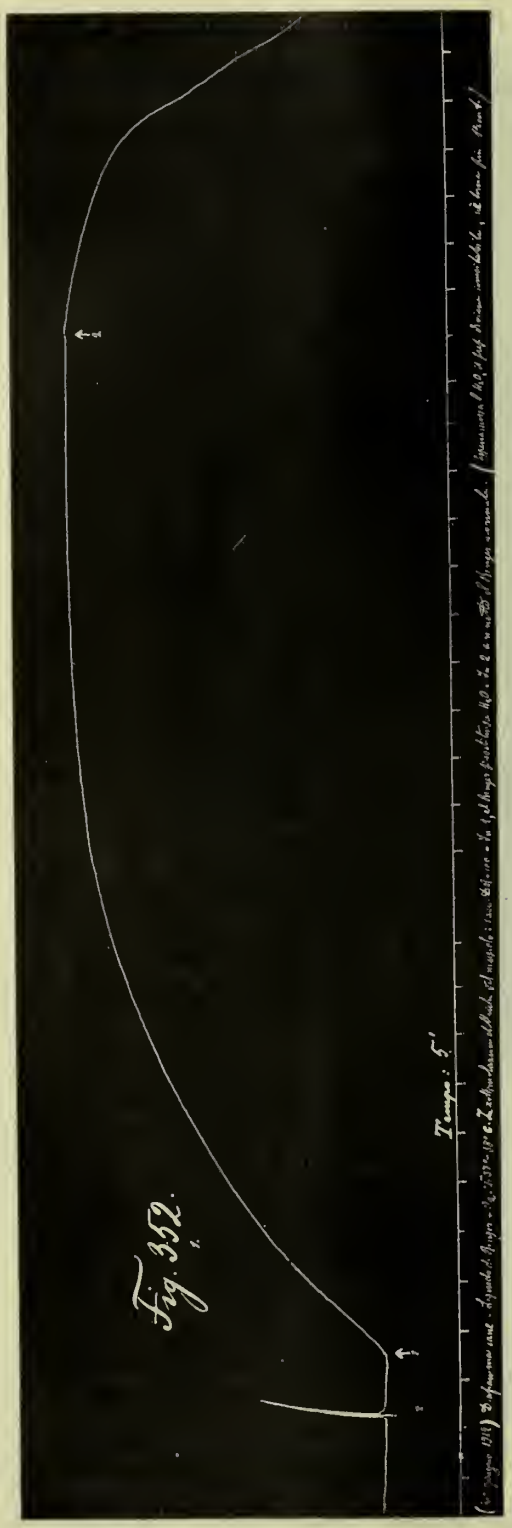


Fig. 19 (Riduz. fotografica).

ciamento ha luogo, non ostante che per l'acqua gorgogli incessantemente l'ossigeno. Constatata l'ineccitabilità del muscolo, si sostituisce all'acqua liquido di Ringer normale, già riscaldato a 37° C.: dopo un certo tempo, il muscolo incomincia ad allungarsi.

Un esperimento analogo, fatto sopra un muscolo gastrocnemio di rospo (*Bufo vulgaris*), dette lo stesso risultato, quando al liquido di Ringer in cui era stato prima immerso, si sostituì acqua distillata.

Che l'accorciamento dei muscoli striati immersi in acqua distillata sia effetto dell imbibizione dei colloidi muscolari, e in parte anche di attrazione osmotica di acqua, data la concentrazione molecolare, sempre relativamente alta, del succo muscolare, non credo si possa mettere in dubbio. Ma su ciò avrò occasione di tornare in seguito.

2) Azione del liquido di Ringer variamente concentrato. — L'esperimento corrispondente alla fig. 20 dimostra che facendo agire (in *1*), sul preparato diaframmatico, liquido di Ringer concentrato (sei volte più concentrato del liquido di Ringer normale), il muscolo sùbito si accorcia, rimane accorciato per un tempo considerevole, e poi comincia spontaneamente a distendersi, mentre è ancora immerso nel liquido di Ringer concentrato. In questo esperimento il muscolo non venne stimolato; quindi nulla posso dire circa l'influenza della soluzione ipertonica sulla eccitabilità. In *2*, si sostituì liquido di Ringer normale a quello concentrato.

Le dentellature precedenti il punto *1* sono contrazioni ritmiche spontanee del pre-

parato muscolare, in parte inscritte sopra una linea ondulata (oscillazioni del tono spontanee).

Nell'esperimento corrispondente alla fig. 21, prima di sostituire (in *1*), al liquido di Ringer normale, liquido di Ringer ipertonico (4 volte più concentrato), il preparato, stimolato con corrente indotta d'apertura (1 accumulatore; DR = 100 mm.), si mostrò normalmente eccitabile con gli stimoli diretti. Sùbito dopo la sostituzione del liquido, però, l'eccitabilità scomparve del tutto. Rispetto al tono, si può dire che il muscolo fosse dalla soluzione ipertonica, dapprima, come immobilizzato; presentò poi un piccolissimo accorciamento seguìto, dopo parecchio tempo, da una lievissima distensione. Il primo tratto della fig. 21 presenta anch'esso deboli oscillazioni del tono spontanee.

In un'altra esperienza (fig. 22), la sostituzione (in *1*), al liquido normale, di liquido di Ringer ipertonico (5 volte più concentrato), provocò egualmente la perdita

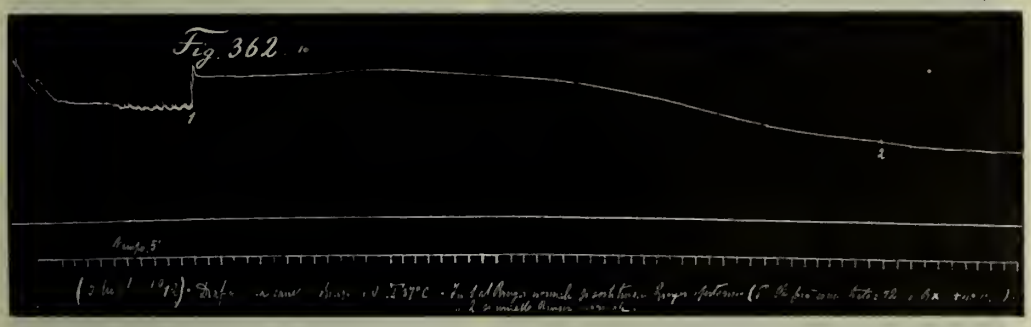


Fig. 20 (Riduz. fotografica).

dell'eccitabilità e l'immobilizzazione del muscolo. In *2* venne rimesso liquido di Ringer normale; tuttavia il muscolo restò ineccitabile, e solo presentò una mediocre distensione.

In un'ultima esperienza, oltre a sostituire, al liquido di Ringer normale, liquido di Ringer ipertonico (2 volte più concentrato), venne anche tolto dal liquido l'O_2. Anche in questo caso si verificò perdita dell'eccitabilità; ma per giunta si osservò un lento ma notevole accorciamento: e solo dopo che il muscolo era rimasto per molto tempo accorciato (più di due ore), si iniziò un leggiero allungamento.

Così che, dalle mie esperienze, a prescindere da quest'ultima (in cui oltre alla ipertonicità del liquido, agì anche la mancanza d'ossigeno), resulta che il liquido di Ringer ipertonico provoca o l'immobilizzazione del muscolo o un piccolo accorciamento, che solo in un secondo tempo può essere seguìto da un certo grado di distensione.

L'interpretazione di questi risultati ci sembra ovvia. Infatti, dalle soluzioni ipertoniche il muscolo non può assorbire acqua e accorciarsi. Anzi, perderà acqua. La sua lunghezza rimane quindi, per lo più, quasi invariata. Ma in un caso (il

primo), il liquido di Ringer eccessivamente ipertonico provocò notevole accorciamento; e anche negli altri casi la piccola variazione di lunghezza, che si osservò, fu sempre nel senso dell'accorciamento, mai dell'allungamento.

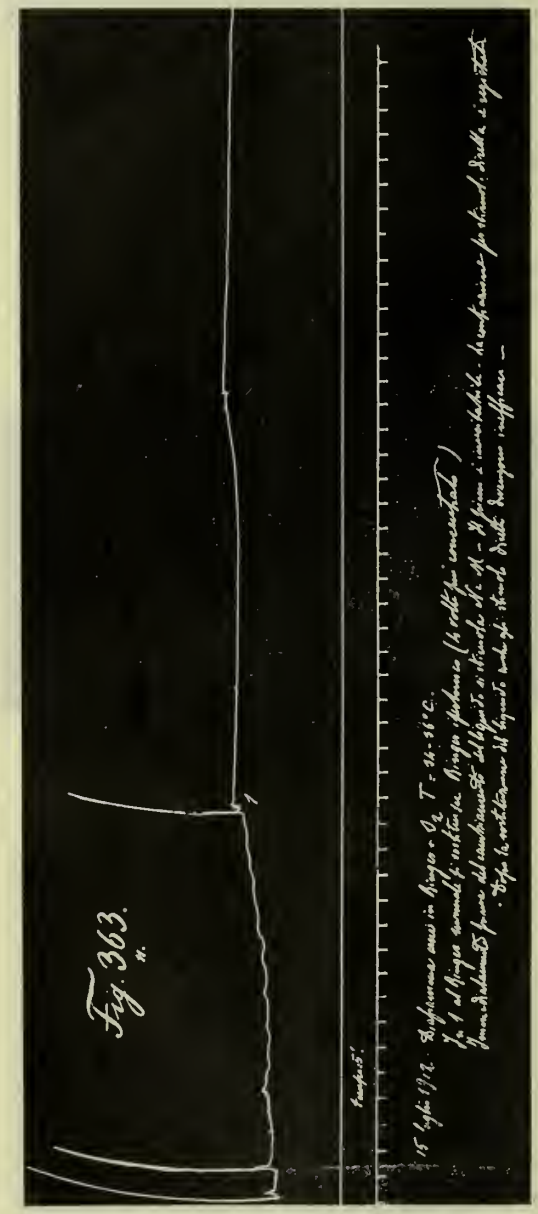


Fig. 21 (Riduz. fotografica).

Ora questo forte o lieve accorciamento credo possa spiegarsi nello stesso modo in cui Loeb ([1]) prima, e poi Buglia ([2]) nel mio Laboratorio, spiegarono analoghe variazioni di peso (aumenti) in soluzioni saline ipertoniche. Verosimilmente l'ipertonicità del liquido stimola il muscolo, nel quale perciò si forma una certa quantità di acidi (forse in proporzione all'intensità dello stimolo), che sono capaci di provocare il processo d'imbibizione dei colloidi muscolari, cioè l'assorbimento di acqua pur da soluzioni relativamente concentrate.

[Per quanto riguarda l'azione di soluzioni saline concentrate, ved. i citati lavori di Loeb, e anche quelli di E. Rossi ([34]), e di von Fürth e Schwarz ([36])].

Il Meigs ([37]), studiando l'influenza che soluzioni variamente concentrate esercitano sulla muscolatura liscia dello stomaco della rana, venne alla conclusione che le soluzioni ipertoniche (2 % NaCl) provocano accorciamento del preparato muscolare, mentre le soluzioni ipotoniche provocano allungamento o rilassamento di esso. Nei muscoli striati (m. sartorio di rana), invece, egli trovò che le soluzioni ipertoniche provocano rilassamento; le ipotoniche, accorciamento. Sulla base di questi risultati, l'A. fece delle considerazioni riguardanti il meccanismo della contrazione muscolare in generale, che qui mi astengo dal riferire.

I risultati delle ricerche fatte da Carol. M'Gill ([38]) sono stati, però, diversi da quelli comunicati dal Meigs, per quanto riguarda i muscoli lisci; mentre, per quanto riguarda i muscoli striati, furono esattamente gli stessi: in soluzioni ipertoniche

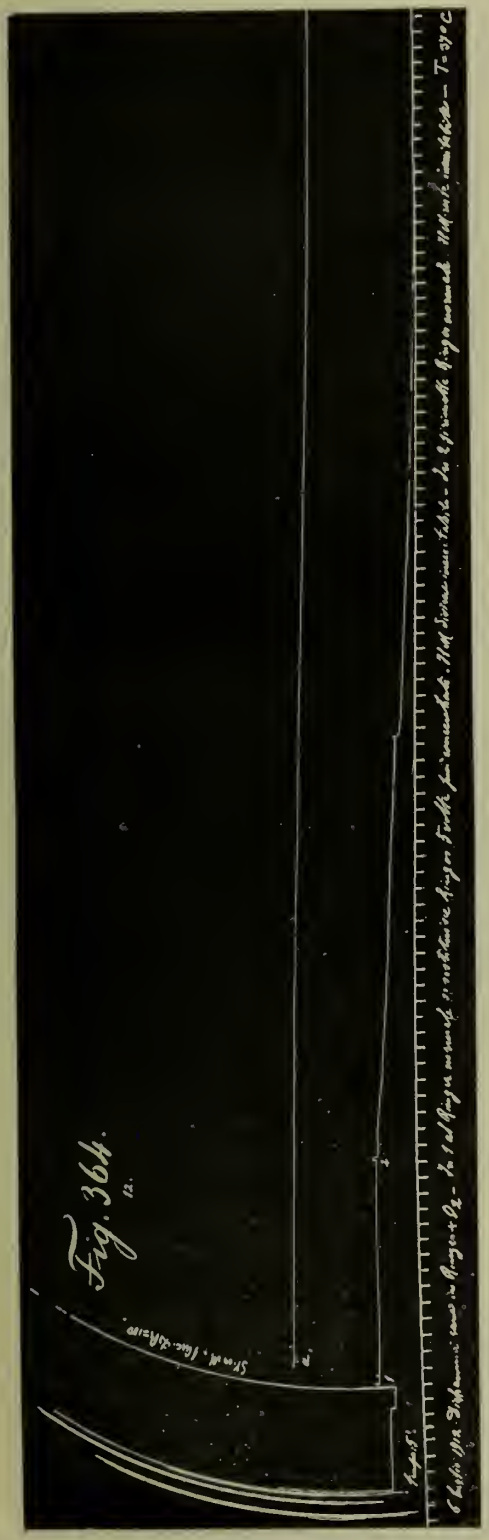


Fig. 22 (Riduz. fotografica).

(2 % NaCl) per gli animali terrestri (6 % NaCl per gli animali marini), i muscoli striati si allungano, in soluzioni ipotoniche si accorciano. Ma lasciamo da parte, per ora, l'azione delle soluzioni saline ipotoniche e ipertoniche sui muscoli lisci, dei quali mi occuperò diffusamente in un'altra pubblicazione. Il Meigs ([37]) ha risposto con nuove ricerche alle osservazioni della M'Gill, confermando i suoi primi esperimenti.

I miei esperimenti sulle striscie di diaframma (m. striato) hanno dato risultati concordi con quelli di Meigs e di M'Gill per quanto riguarda l'effetto dell'acqua distillata, che è accorciamento; discordi, per quanto riguarda le soluzioni ipertoniche. Le quali, secondo Meigs e M'Gill, provocano allungamento dei muscoli striati; secondo me, invece provocano o un lieve accorciamento, o immobilizzazione del muscolo: ma in nessun caso, mai, allungamento. L'allungamento dei muscoli striati in soluzioni ipertoniche, osservato tanto da Meigs quanto da M'Gill, mi sembra inesplicabile. I muscoli striati separati dal corpo sono generalmente quasi del tutto privi di tono; l'allungamento, quindi, non può essere espressione di una variazione fisiologica del tono. D'altro canto, le soluzioni molto ipertoniche non possono che sottrarre acqua. Come mai questa sottrazione di acqua si manifesti nei miei esperimenti con un accorciamento, e in quelli di Meigs e M'Gill con un allungamento, è difficile dire. Si noti che le soluzioni ipertoniche adoperate dai due esperimentatori americani ebbero sempre la concentrazione massima 2 % di NaCl; e non pare che essi abbiano fatto gorgogliare ossigeno attraverso i liquidi.

Per quanto riguarda l'azione delle soluzioni ipertoniche sui muscoli striati, meritano di essere rammentate anche le ricerche di Demoor e Philippson ([39]). Questi autori hanno osservato che soluzioni ipertoniche producono, solamente per la loro pressione osmotica, una modificazione della contrazione muscolare, che consiste essenzialmente in uno straordinario allungamento del periodo di decontrazione del muscolo, mentre il periodo di contrazione rimane inalterato, al principio. L'irrigazione prolungata con soluzioni ipertoniche determina l'ineccitabilità completa del muscolo. L'effetto osservato dipenderebbe essenzialmente dalla pressione osmotica delle soluzioni, perchè si osserva anche quando si rende ipertonica la soluzione fisiologica ordinaria, mediante aggiunta di saccarosio. Secondo gli stessi autori, il passaggio di soluzioni isotoniche e ipertoniche per i vasi determina nel muscolo un edema considerevole; ma il liquido, secondo essi, non penetra nell'interno delle fibre muscolari, bensì rigonfia i vasi e riempie tutti gl'interstizî del tessuto, di guisa che non avverrebbe imbibizione della sostanza muscolare. Le soluzioni ipotoniche determinano poi una meno accentuata alterazione della contrazione muscolare, la quale consiste in un allungamento del periodo di decontrazione. Per quanto riguarda il tetano, Demoor e Philippson hanno in seguito osservato che i muscoli di cane sottoposti all'azione delle soluzioni ipertoniche dànno un tetano quasi completo con due soli stimoli al secondo, e quelli di rana con cinque; in altre parole, le soluzioni ipertoniche esaltano nel muscolo la proprietà di tetanizzarsi, il che sta pienamente d'accordo con il prolungamento della fase estensoria che esse producono. Invece le soluzioni ipotoniche non producono lo stesso effetto: il tetano completo non si produsse sempre con 20 stimoli al secondo in muscoli sottoposti all'azione di dette soluzioni. Le soluzioni ipertoniche allungano il periodo post-tetanico di decontrazione; le ipotoniche, invece modificano il periodo di contrazione e di contrattura.

Soprattutto importante per noi sarebbe stata l'osservazione di questi autori riguardante l'influenza delle soluzioni ipertoniche e ipotoniche sulla lunghezza dei muscoli (striati) in riposo. Ma, digraziatamente, il testo (pag. 10), che deve contenere per giunta un errore di stampa, non è in accordo con la fig. 10, dalla quale risulta che le variazioni di lunghezza, dagli autori osservate, erano trascurabili.

III. *Azione degli acidi e degli alcali.*

L'influenza dell'aggiunta di acidi o di alcali liberi al liquido di Ringer, in cui è sospeso il tessuto sopravvivente, o che si fa circolare per i vasi di un animale, non consiste solamente nell'alternarne la reazione attuale, cioè l'attuale concentrazione degli idrogenioni (vale a dire, nel rendere acido o alcalino quel liquido); ma anche nell'aggiunta di ioni nuovi ed estranei, o anche nella ionificazione di atomi e gruppi atomici preesistenti nell'organo o nell'organismo allo stato di combinazioni svariate.

Questa concezione dell'influenza, che specialmente gli acidi esercitano sui fenomeni fisiologici è la più moderna, e ad essa siamo giunti per una lunga serie di ricerche

sperimentali, che non posso nemmeno sommariamente qui rammentare, perchè, ciò facendo, aumenterei di molto la mole, già troppo grande, di questa monografia. Mi basti inviare il lettore alle sei Memorie che in questi ultimi anni A. Herlitzka ([3]) ha dedicato allo studio dei « liquidi atti a conservare la funzione dei tessuti sopravviventi » : ivi troverà citata quasi tutta la letteratura che si riferisce all'argomento.

La questione sta nei seguenti termini generali.

È sommamente necessario di conferire ai liquidi, destinati a conservare la funzione dei tessuti, una composizione chimica minerale e una reazione attuale il più possibilmente eguale a quella del sangue. La reazione normale di questo è debolissimamente alcalina. Il liquido di Ringer — qualunque sia la formula, del resto variabile secondo gli autori, in base alla quale è composto — ha sempre una debolissima reazione alcalina che deve al bicarbonato sodico che contiene. Ora, l'aggiunta di acidi, non solo può neutralizzarlo e poi conferirgli reazione acida, ma ne altera anche la composizione qualitativa secondo la natura dell'acido che si aggiunge. Non è lo stesso, infatti, aggiungere quantità equivalenti di HCl o di H_2SO_4 o di acido lattico, o acetico o carbonico ecc., perchè, ammesso pure che le aggiunte siano fatte in proporzioni tali da raggiungere nel liquido alla fine, un'eguale concentrazione degl'idrogenioni, noi abbiamo aggiunto al liquido anioni differenti (clorioni, acetioni, carbonationi ecc.) i quali sono dotati di proprietà diverse e in modo diverso agiscono sui tessuti. Non solo: ma quando si fa agire, per es., acido cloridrico, noi dobbiamo contare, non solamente sugl'idrogenioni e clorioni aggiunti, ma anche su quegli ioni che l'acido cloridrico sposta dalle loro combinazioni e rende liberi. Per es., quando nel sangue circolante si inietta acido cloridrico, nel sangue stesso non viene solamente a trovarsi un eccesso di idrogenioni e di clorioni, ma anche un eccesso di carbonationi perchè l'acido cloridrico, come più forte, sposta l'acido carbonico dalle sue combinazioni, e lo mette in libertà. Analogamente, iniettando basi, oltre ad aumentare la concentrazione degl'idrossilioni e dei cationi derivanti dalla base iniettata, si altera anche la composizione qualitativa del liquido che bagna o irrora i tessuti. Questo è il concetto nuovo, cui sopra ho accennato; e mi basti di aver detto in che cosa consiste.

Il liquido di Ringer da me usato aveva la seguente composizione:

NaCl	grammi	9,00
KCl	»	0,40
$CaCl_2$	»	0,24
$NaHCO_3$	»	0,20
Acqua distillata	»	1000,00

Questa soluzione ha una pressione osmotica (un abbassamento del punto di congelamento) approssimativamente eguale a quella del sangue del cane. Ma io ho voluto anche determinare la reazione attuale e potenziale di essa.

Da varie ricerche fatte col metodo degli indicatori, così come è stato recentemente definito dal Sörensen ([4]) (usando come liquidi-campioni miscele di fosfati mono- e bimetallici, e come indicatore il rosso neutro), resulta che il mio liquido possiede una reazione corrispondente, alla temperatura di 4° C., a $C_{H^+} = 1,78 \times 10^{-8}$:

esso quindi è lievemente alcalino, e la sua alcalinità corrisponde, presso a poco, a quella del sangue; onde esso è, quanto alla reazione, perfettamente rispondente allo scopo. Ma era anche interessante di determinare la capacità acidoneutralizzatrice di un tale liquido, giacchè è noto che la funzione degli organi e dei tessuti, così *in situ* come durante la sopravvivenza, è accompagnata dalla formazione di sostanze acide. Ho perciò determinato la quantità di una soluzione diluitissima di HCl da aggiungere a un determinato volume del mio liquido di Ringer per portarlo alla reazione corrispondente alla neutralità: $C_{H^+} = 0{,}64 \times 10^{-7}$. Anche a tale scopo mi son servito della miscela dei fosfati, come liquido campione, e del rosso neutro come indicatore. La media dei valori così ottenuti dimostra che, per neutralizzare un litro di liquido Ringer, occorrono 0,00033 gr. - eq. di H. Come si vede quindi, il liquido di Ringer anche per il suo potere neutralizzatore, non è privo di efficacia, in quanto che esso dispone di una discreta resistenza agli acidi. Se da questo punto di vista è molto inferiore al sangue, ciò dipende dal minor contenuto in carbonati, e dall'assenza di fosfati e di proteine. Perciò è sembrato a qualche autore necessario di conferire ai liquidi fisiologici artificiali un maggior potere neutralizzatore.

Con questo criterio sono stati composti, fra gli altri, i liquidi di Göthlin ([5]), di Hédon e Fleig ([6]) e di Friedenthal ([7]), in cui, oltre ad essere aumentata la concentrazione del bicarbonato sodico, è introdotto anche il fosfato bisodico. Tali liquidi, peraltro, non hanno incontrato il favore degli sperimentatori, evidentemente perchè essi non dànno effetti molto migliori dell'ordinario liquido di Ringer. Probabilmente, in questo sforzo di aumentare il potere neutralizzatore dei liquidi conservatori si è esagerato, non tenendo conto della piccolissima quantità di acido che il tessuto sopravvivente può produrre. Da una ricerca da me fatta al riguardo, affaticando un muscolo fino all'esaurimento, risultò che la reazione attuale del liquido di Ringer, in cui esso era immerso, non subì alcuna variazione misurabile. Ciò, per altro, non significa che gli acidi, che si formano durante il metabolismo dei tessuti sopravviventi, non possano, accumulandosi in essi, produrvi delle alterazioni funzionali; ma ad evitare ciò è necessario, non tanto la presenza di un liquido dotato di forte potere neutralizzatore, quanto che esso giunga a contatto di ogni elemento cellulare, e che continuamente vi si rinnovi, il che non si verifica se non quando la circolazione è integra. E tale condizione solo raramente può essere raggiunta negli esperimenti di fisiologia.

L'efficacia dell'aggiunta di una certa quantità di urea ai liquidi conservatori consisterebbe, secondo Herlitzka ([3]), nel fatto che questa sostanza possiede proprietà lipoidolitica, e abbassa un poco la tensione superficiale della soluzione salina.

***

Premesse queste poche considerazioni d'indole generale, passo subito a riferire le mie ricerche. Esse sono state suggerite dal fatto, che la contrazione del preparato diaframmatico, fin dal principio o dopo un più o meno lungo periodo di sopravvivenza, presenta una fisonomia speciale, caratterizzata, come esporrò diffusamente in un altro lavoro e come risulta dalle curve delle figg. 23 e 24, da una maggiore lentezza del processo di decontrazione o allungamento, non che dalla comparsa, sulla branca discendente della rispettiva curva, di una seconda curva di contrazione più o meno

accentuata. La comparsa di questa forma di contrazione doppia coincide, in alcuni casi, con la diminuzione della conduttività neuro-muscolare, cioè col fatto che la contrazione provocata stimolando il nervo è meno gagliarda di quella che si ottiene stimolando il muscolo, o addirittura con la inefficacia della stimolazione del nervo. Ma

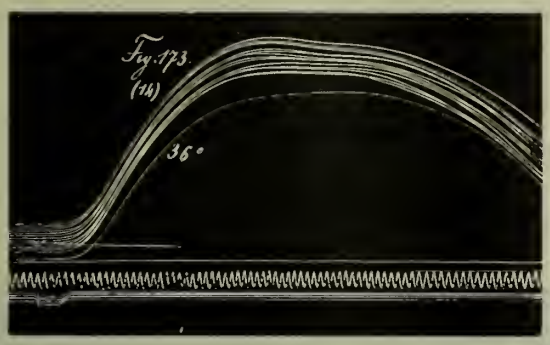


Fig. 23 (Riduz. fotografica).

in altri casi, però, questa forma esiste anche nei preparati freschi, e può coincidere, fin dall'inizio, con una esaltazione della conduttività neuro-muscolare, in generale con una straordinaria eccitabilità del preparato frenico-diaframmatico.

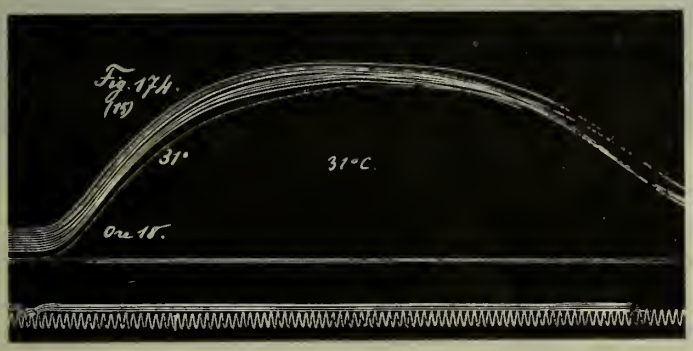


Fig. 24 (Riduz. fotografica).

Ora, si può supporre che nell'una e nell'altra condizione, cioè quando è abolita e quando è esaltata l'eccitabilità indiretta del preparato neuro-muscolare, la comparsa della contrazione doppia sia dovuta all'accumularsi nelle giunzioni neuro-muscolari e nelle fibre muscolari di alcuni prodotti del metabolismo, i quali, mancando la circolazione del sangue, non possono essere interamente trasformati o allontanati man mano che si formano. E poichè tali prodotti sono di natura prevalentemente acida, mi è sembrato degno di speciale interesse studiare l'influenza che la acidificazione e la alcalinizzazione del liquido in cui il muscolo vien conservato, esercita sulla contrattilità e sul tono muscolare. Con ciò non voglio dire che gli effetti dell'asfissia e

della fatica equivalgano interamente ed esclusivamente alla progressiva alterazione della normale reazione dei succhi dei tessuti sopravviventi, con tendenza verso l'acidità più o meno accentuata; chè anzi recentemente è stata espressa l'opinione che l'azione dell'acido carbonico, dell'acido lattico ecc. sia dovuta, non solo ai loro idrogenioni, ma anche ai loro anioni, e perfino alle loro molecole non dissociate ([8]), e a sostanze diverse, di natura per ora ignota, che si formano durante la morte del muscolo [Birnbacher ([9])]. Ma l'acidificazione dei succhi deve pur esercitare molta influenza; e ciò giustifica le mie ricerche.

1) Azione degli acidi. — Le ricerche, delle quali qui riferisco i risultati, riguardano l'azione dell'acido cloridrico, dell'acido lattico ([16], [31], [32]) e degli acidi grassi inferiori ([10]). Dell'azione dell'acido carbonico ([26], [27], [28], [29], [30]) mi occuperò particolarmente in un'altra prossima pubblicazione.

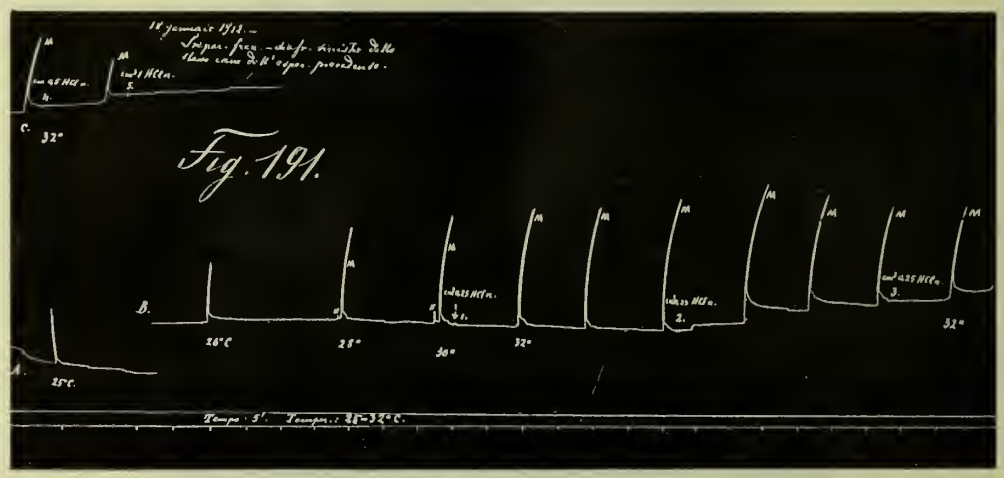


Fig. 25 (Riduz. fotografica).

Esperimento del 18 gennaio 1912. — Preparato frenico-diaframmatico di cane. Si aggiunge al liquido di Ringer l'acido cloridrico in piccole dosi successivamente, registrando i movimenti del muscolo (fig. 25) su cilindro rotante a piccola velocità. Le stimolazioni del nervo (*N*) riescono poche volte efficaci; infatti, già prima dell'aggiunta dell'acido la conduttività neuro-muscolare era abolita. Le aggiunte successive dell'acido sono fatte nei punti *1*, *2*, *3* (ciascuna di cm³ 0,25 HCl n.), *4*, (cm³ 0,5), *5* (cm⁵ 1 HCl n.). Furono aggiunti, in tutto, a 120 cm³ di liquido di Ringer, cm³ 2,25 di HCl n. La concentrazione teorica dell'acido raggiunta fu dunque di gr.-eq. 0,01875 ‰; ma colla titolazione diretta la si trovò eguale a gr.-eq. 0,0122 ‰, evidentemente perchè una parte dell'acido fu neutralizzata dal liquido di Ringer e dalle sostanze proteiche muscolari.

Dopo le prime aggiunte, vale a dire quando ancora l'acidificazione era debolissima, l'altezza delle contrazioni crebbe gradatamente in modo cospicuo. Ma già circa 20′ dopo la seconda aggiunta, le contrazioni incominciarono a diminuire di altezza; e la diminuzione continuò ad accentuarsi dopo le aggiunte successive finchè

il muscolo diventò ineccitabile. Il muscolo presentò, inoltre, un progressivo accorciamento, che per altro divenne cospicuo solo dopo la seconda aggiunta di acido, vale a dire dopo avere aggiunto *in toto* 0,5 cm³ di HCl n. (La curva B è continuazione della curva A; la C della B).

Questo esperimento dimostra nello stesso tempo l'azione delle piccole dosi di acido, che consiste in un transitorio aumento dell'eccitabilità (contrattilità) e del tono del muscolo, e quella delle dosi maggiori, che consite in una evidente depressione della contrattilità, culminante nella abolizione della eccitabilità, e in un progressivo accorciamento del muscolo. L'accorciamento tonico incomincia a rendersi visibile sul tracciato solo dopo la seconda aggiunta di acido. Le più alte contrazioni provocate da stimoli elettrici unici coincidono coll'inizio dall'accorciamento tonico. Qui è manifesto come ogni accorciamento tonico, finchè coincida con l'integrità della funzione contrattile rapida, determini aumento della altezza delle contrazioni. Avanti la seconda aggiunta di acido, l'accorciamento del muscolo non è molto grande; ma la esaltazione della funzione sarcoplasmatica si esplica nell'aumento dell'altezza delle contrazioni, nelle quali, senza dubbio, sarà comparsa una cospicua contrazione secondaria.

Esperimento del 19 gennaio 1912. — Col preparato frenico-diaframmatico sinistro di un cane, si ripete lo stesso esperimento, registrando le contrazioni, provocate mediante stimolazione diretta del muscolo, su cilindro rotante a piccola velocità. I gruppi precedenti l'aggiunta dell'acido cloridrico rappresentano contrazioni normali: esse aumentano mano mano di altezza.

A un certo punto si aggiunge al liquido di Ringer 1 cm³ di HCl n., tutto in una volta. La concentrazione teorica dell'acido è, quindi, di gr.-eq. 0,0083 per litro; ma con la titolazione si trova la concentrazione di gr.-eq. 0,005 per litro, perchè una parte dell'acido aggiunto è stata neutralizzata, sia dagli alcali del liquido di Ringer, sia anche dalle proteine muscolari. Subito il muscolo comincia ad accorciarsi, accorciamento che continua poi intensificandosi. Le contrazioni muscolari, prima diminuiscono gradatamente di altezza, e finalmente il muscolo diventa ineccitabile. Con questo esperimento rimane confermata l'azione estremamente nociva delle troppo grandi concentrazioni di acido. Rimarrebbe da spiegare il progressivo aumento delle altezze di contrazione nei varî gruppi che precedono l'aggiunta dell'acido. Ebbene, a me pare che esso sia dovuto al progressivo aumento della formazione spontanea di acidi (acido carbonico, acido lattico) nella sostanza stessa delle fibre muscolari, acidi che agiscono in modo analogo a quelli sperimentalmente aggiunti al liquido di Riner. Tali aumenti di altezza delle contrazioni rapide provocate da stimoli unici di corrente indotta nel preparato diaframmatico ancòra fresco si veggono distintamente anche nelle figg. 13, 14 e 15, e costituiscono, come ho già detto sopra, il « fenomeno della scala ».

In altri esperimenti osservai l'influenza che gli acidi esercitano sul tono muscolare, senza preoccuparmi delle variazioni della eccitabilità dei preaparati. In due esperimenti fatti sopra due preparati diaframmatici di cane immersi in liquido di Ringer ossigenato, fu aggiunto acido lattico, in quantità assai piccola (tanto da raggiungere nel liquido di Ringer una concentrazione di circa 0,001 n.). Gli accorciamenti non furono molto cospicui. Un terzo esperimento sul m. gastrocnemio di rospo

(*Bufo vulgaris*) dette lo stesso risultato. L'effetto fu identico nei tre casi: più o meno cospicuo accorciamento del muscolo, che durò molto tempo dopo l'aggiunta dell'acido.

Quarto esperimento: azione dell'acido lattico sul preparato diaframmatico del cane.

L'acido fu aggiunto al liquido di Ringer in quantità maggiore. In questo esperimento fu anche esplorato il decorso dell'eccitabilità del muscolo durante il progressivo accorciamento, sotto l'azione dell'acido lattico.

Osservai che l'eccitabilità e la contrattilità, mano mano che la curva monta, cioè che l'accorciamento si accentua, vanno scemando, finchè, dopo la sesta aggiunta di acido, il muscolo diventa ineccitabile.

Altri esperimenti dimostrano gli effetti dell'azione dell'acido cloridrico sul preparato diaframmatico. Gli effetti sono identici a quelli descritti per l'acido lattico. La eccitabilità persiste a lungo; diminuisce col progredire dell'accorciamento. I particolari dei due esperimenti non modificano in nulla quanto sopra è detto.

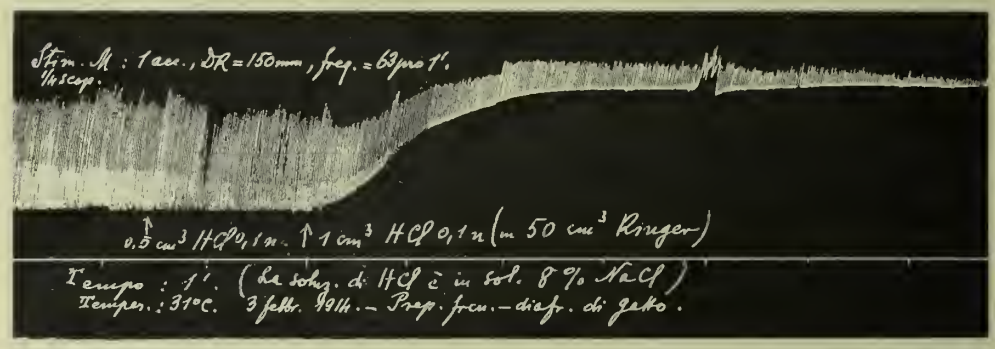


Fig. 26 (Riduz. fotografica).

Ho voluto, poi, ripetere gli esperimenti, circa l'azione degli acidi cloridrico e lattico, su preparati diaframmatici che erano stimolati ritmicamente con scosse uniche di corrente indotta d'apertura di varia intensità e frequenza. Ne riferisco qui alcuni solamente, che sono anche i più dimostrativi.

Il tracciato della fig. 26 dimostra l'azione dell'acido cloridrico su un preparato diaframmatico di gatto.

Bastarono cm³ 1,5 di soluzione 0,1 n. HCl, aggiunti in due volte a 50 cm³ di liquido di Ringer, per produrre una contrattura fortissima, durante la quale il muscolo rimase tuttavia eccitabile. Inoltre, le contrazioni, provocate con la frequenza di 63 al minuto, raggiunsero sull'altipiano della curva contratturale un'altezza notevolmente maggiore di quella delle contrazioni precedenti: vale a dire si comportarono come contrazioni di un muscolo artificialmente « sostenuto ».

Le figg. 27 e 28 dimostrano la analoga azione dell'acido lattico. In tutt'e due gli esperimenti si ebbero contratture assai cospicue; e anche qui, durante le contratture, le contrazioni rapide si elevarono ad altezze superiori a quelle precedenti l'azione dell'acido. Nel tracciato della fig. 28, la contrattura mediana, che segue all'aggiunta

Fig. 27 (Riduz. fotografica).

(in 5) di una goccia di acido lattico puro, presenta l'aspetto di una contrazione lenta di muscolo liscio.

Nel tracciato della fig. 27, degno di nota è l'effetto del cambiamento del liquido di Ringer. Tolto con la lavatura l'eccesso dell'acido, man mano l'accorciamento tonico del muscolo accenna a diminuire, mentre le contrazioni ritmiche provocate aumentano visibilmente, sebbene irregolarmente, di altezza. Anche degno di nota fu l'aumento dell'altezza delle contrazioni seguenti a un brevissimo riposo, che fu concesso al muscolo poco dopo la seconda aggiunta di acido lattico, quando le contrazioni ritmiche accennavano a divenire meno forti.

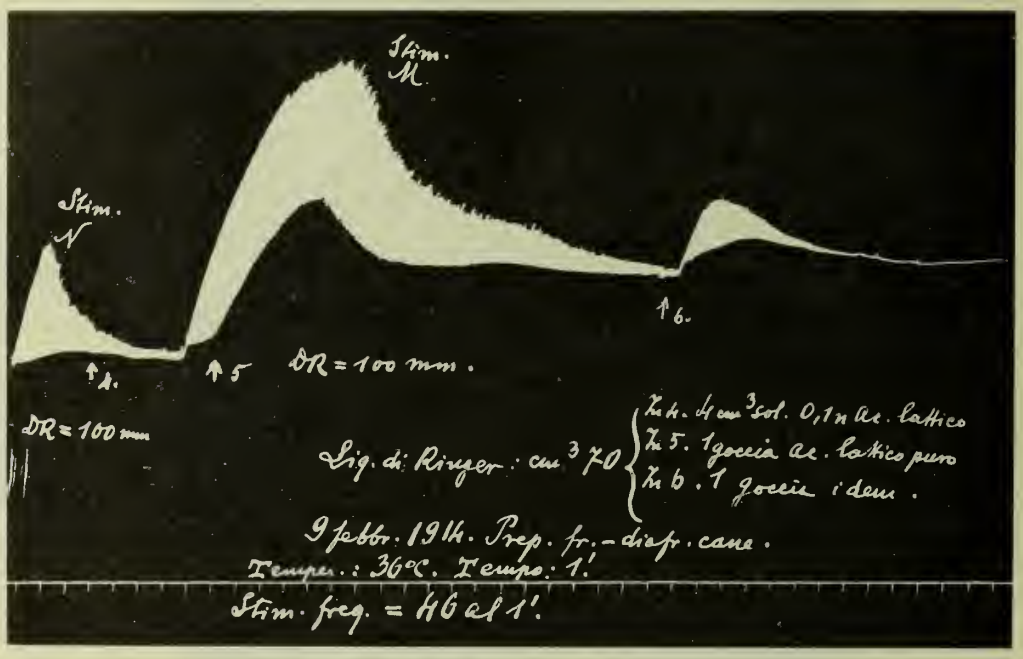


Fig. 28 (Riduz. fotografica).

Anche gli acidi grassi inferiori provocano nel preparato diaframmatico forti accorciamenti, quando sian fatti agire in dosi sufficienti.

Credo inutile riportare i tracciati corrispondenti a tutti gli acidi grassi sperimentati, a cominciare dal formico e a finire al caprilico. Gli acidi inferiori fino al valerianico, sono molto tossici, sebbene meno degli acidi minerali. Ma notevolmente tossici sono anche gli acidi caproico e caprilico, il secondo dei quali è quasi insolubile in acqua (*).

(*) Dell'acido caproico, J. Lewkowitsch (*Chemical technology and analysis of oils, fats, and waxes*, 4th edit., I, pag. 122; London, 1909) dice: « The acid is not miscible with water, although it is to some extent soluble in it ». Dello stesso acido, J. B. Leathes (*The fats*, pag. 7; London, 1910) dice: « It is slightly soluble in water ».

Come si vede dal tracciato della fig. 29, l'acido capronico, dopo la prima aggiunta (in *1*, 3 gocce, equivalenti a circa $^3/_{50}$ di cm^3, su 80 cm^3 di liquido di Ringer), depresse il tono, fece scomparire le piccole contrazioni ritmiche automatiche del preparato e diminuire le altezze dalle contrazioni provocate; e subito dopo l'aggiunta (in *2*) di altre 6 gocce, causò un accorciamento da rigidità assai forte.

In modo analogo agì, come risulta dalla fig. 30, l'acido caprilico, di cui furono aggiunte 10 gocce in 100 cm^3 di liquido di Ringer. Appena aggiunto, l'acido galleggiava sul liquido. Ma rinforzando la corrente dell'ossigeno, io lo rimescolai sì fortemente da produrre un'emulsione, che era svelata dall'aspetto opalescente assunto dal liquido di Ringer. Quindi m'accorsi che il preparato muscolare diventava, mano mano, sempre più opaco e grigiastro alla superficie; ed ebbi l' impressione che le goccioline dell'acido grasso fossero state attratte dalla superficie del muscolo e ivi concentrate. Probabilmente l'azione tossica incominciò ad esercitarsi sulle fibre superficiali. Certo è che, al principio dell'accorciamento, le stimolazioni del nervo si dimostrarono, per breve tempo, più efficaci di quelle del muscolo.

Siccome un effetto analogo, sebbene meno intenso, ebbi ad osservare con l'acido oleico, dopo averlo emulsionato mediante forte rimescolamento del liquido, è da credersi che, nel caso di questi due acidi grassi insolubili in acqua, l'azione tossica che essi esercitano dipenda in parte dal radicale acido, per quelle molecole che si saponificano con le basi del liquido di Ringer, e in parte dalle stesse molecole degli acidi grassi che, dopo essersi concentrati, per azione di superficie, sul muscolo, penetrano anche nei suoi elementi morfologici per mezzo dei lipoidi in essi contenuti.

Dell'acido caprilico, Lewkowitsch afferma che « one part dissolves in 400 parts of boiling water; this dissolved acid separates out almost completely on cooling »; e che « 100 cc. of water at 15° C. hold in solution 0,079 gr. of acid ».

Il capronato di calcio è solubile in acqua nella proporzione di 4,4 : 100, a 21-22° C.; il caprilato di calcio è meno solubile in acqua che non il caprilato di bario, che vi si scioglie nella proporzione di gr. 0,62 su 100 gr. di acqua, a 20° C.

I valori di k e di α per gli acidi grassi, per gli acidi minerali e per l'acido lattico, sono:

Acido formico	$k = 21{,}4 \times 10^{-5}$	$\alpha = 0{,}14$	
» acetico	» $= 1{,}8 \times 10^{-5}$	» $= 0{,}04$	
» propionico	» $= 1{,}3 \times 10^{-5}$	—	
» butirrico	» $= 1{,}5 \times 10^{-5}$	—	
» isobutirrico	» $= 1{,}45 \times 10^{-5}$	—	
» valerianico	» $= 1{,}6 \times 10^{-5}$	» $= 0{,}04$	
» caproico	» $= 1{,}45 \times 10^{-5}$	—	
Acido cloridrico	—	» $= 0{,}95$	(a 25° C.)
» nitrico	—	» $= 0{,}96$	(a 25° C.)
» solforico ($^1/_2$)	—	» $= 0{,}8$	(a 18° C.)
» tricloroacetico	—	» $= 0{,}94$	
» lattico (d)	—	» $= 0{,}10$-$0{,}11$	

La dissociabilità dell'acido lattico, dunque, è di poco inferiore a quella dell'acido formico, e notevolmente superiore a quella degli acidi grassi inieriori (dall'acetico al caproico).

Fig. 29 (Riduz. fotografica).

Tutto ciò deve anche valere, sebbene in grado minore, per gli acidi grassi inferiori, che sono solubili in acqua. Infatti, la loro azione tossica non può derivare, data la loro bassa costante di dissociazione elettrolitica, solamente dagl'idrogenioni che se ne liberano; bensì deve dipendere, come già ebbe a notare Loeb ([10]), dai radicali acidi e dalle molecole non dissociate (*).

2) Azione degli alcali (NaOH). Molti esperimenti, fatti su altrettanti preparati diaframmatici di cani, mi hanno concordemente dimostrato che la NaOH in soluzione variamente concentrata (in liquido di Ringer normale) determina pure forte accorciamento terminale (rigidità), che è accompagnato da perdita della eccitabilità del muscolo. [Circa l'azione dell'ammoniaca, ved. il lavoro di E. Rossi ([33]) e alcune mie ricerche di prossima pubblicazione].

È noto che gli alcali sono anche più efficaci degli acidi nell'esaltare la proprietà, posseduta dai colloidi proteici, di imbeversi di acqua. Ciò posto, non crediamo si possa dubitare che anche l'accorciamento terminale (rigidità) provocato dalla NaOH sia effetto d'imbibizione, cioè che la NaOH determini nel muscolo il fenomeno della « rigidità da imbibizione » allo stesso modo degli acidi. E questo fatto mi sembra importante, in quanto che esso conferma che, per quanto riguarda l'effetto ora detto, gli acidi non agiscono se non come sostanze che esaltano nei colloidi proteici il potere d'imbibizione; in ciò, la loro azione si di-

(*) A pag. 460, Loeb scrive: « ... die Säurewirkungen viel weniger von einander abweichen als ihr Dissociationsgrad ». Infatti, l'acido lattico ($\alpha = 0,11$) produce quasi lo stesso effetto degli acidi tricloroacetico ($\alpha = 0,94$) e ossalico, che sono quasi interamente dissociati, come gli acidi minerali. Questa mancanza di corrispondenza fra il grado di dissociazione elettrolitica e l'intensità dell'azione fisiologica, risulta pienamente confermata dalle mie ricerche.

mostra analoga a quella degli alcali. Se invece si trattasse di un'azione specifica degli acidi, sarebbe difficile lo spiegare come essa possa essere comuno agli alcali.

Ma se la soluzione di NaOH è aggiunta in quantità mediocre o in più dosi piccole successive, sotto l'influenza di esse si possono osservare fenomeni, che somiglian perfettamente a quelli che, come abbiamo veduto, provocano gli acidi, o, come vedremo, certi alcaloidi.

Dal tracciato della fig. 31, per es., risulta evidentemente che la prima aggiunta di NaOH (in 1.) provoca una contrattura che poi si risolve spontaneamente. Una seconda aggiunta (in 2.) provoca una contrattura assai più cospicua. Ora le contrazioni rapide che sono provocate durante queste contratture sono enormemente più alte

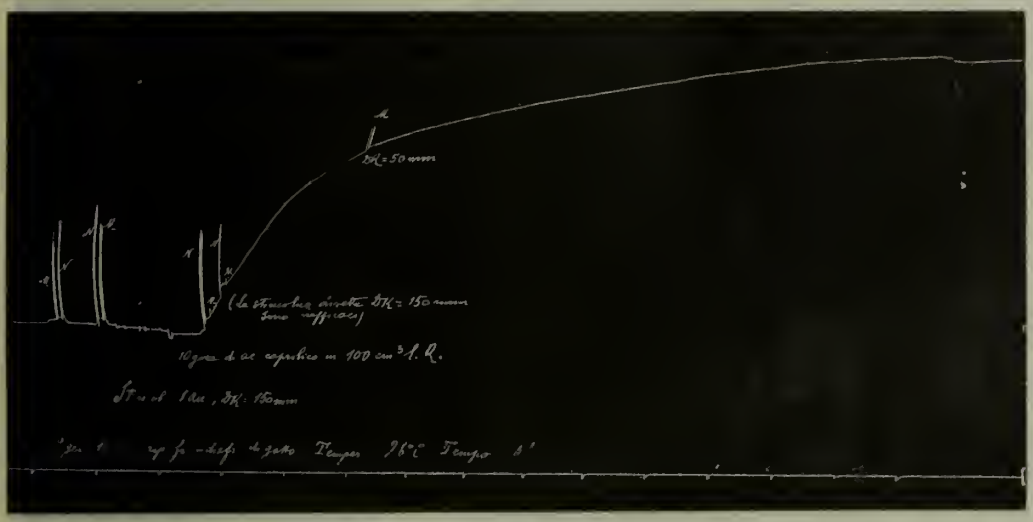


Fig. 30 (Riduz. fotografica).

di quelle del preparato normale; il che dimostra che quegli accorciamenti non hanno nulla che fare con la rigidità, e corrispondono a veri accorciamenti tonici. In questo esperimento, le stimolazioni del preparato furono fatte a grandi intervalli, e perciò la differenza nell'altezza delle contrazioni fu tanto cospicua. Meno cospicua fu nell'esperimento cui corrisponde il tracciato della fig. 32. Ma anche stimolando ritmicamente il muscolo, con una frequenza non troppo grande, ma che però non escluda in modo assoluto la fatica di esso, si ottengono, sotto l'influenza della NaOH, i due fenomeni sui quali ho ripetutamente richiamato l'attenzione del lettore, vale a dire: la contrattura, e l'elevarsi delle contrazioni rapide, provocate durante la medesima, coi loro apici ad altezze che superano, più o meno, le altezze delle contrazioni normali.

Questi due fenomeni si veggono abbastanza bene nel tracciato della fig. 33.

Le prime due (in 1. e 2.) piccole dosi, in questo esperimento, produssero un piccolo accorciamento tonico, che già era in via di risoluzione, quando la terza aggiunta (in 3.) provocò un accorciamento più cospicuo, accompagnato da notevole rinforzo delle contrazioni rapide. Ma fu la quarta dose (in 4.) di alcali che determinò

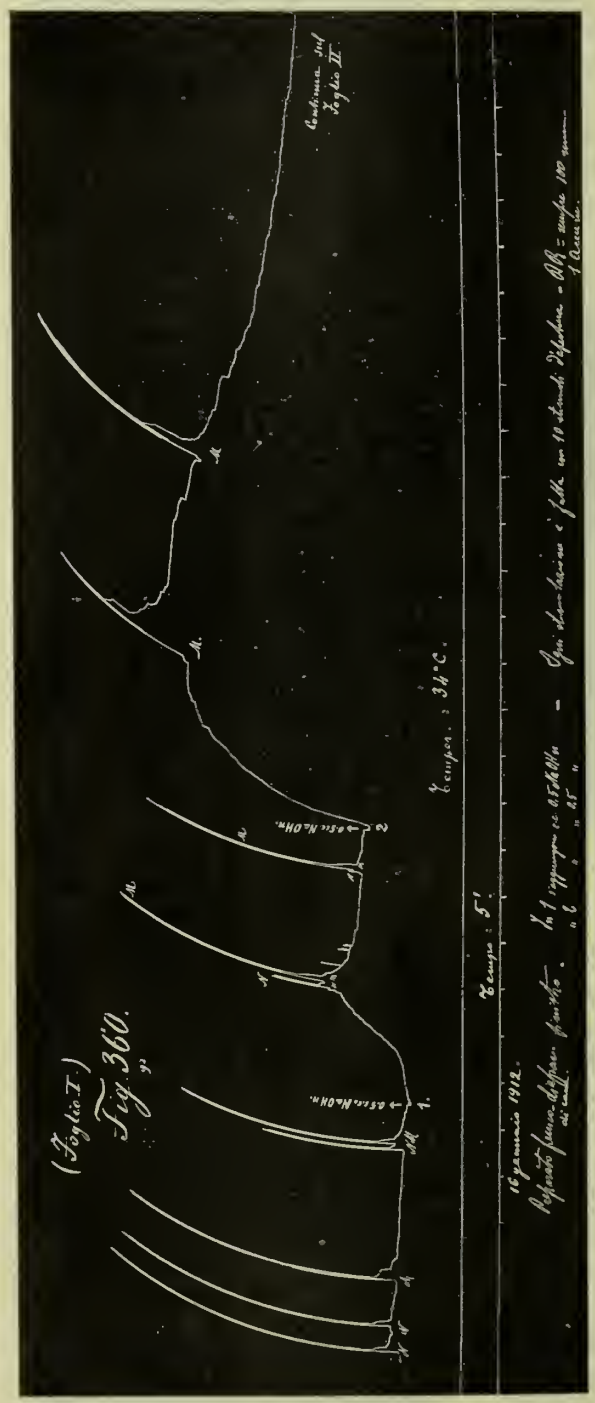


Fig. 31 (Riduz. fotografica).

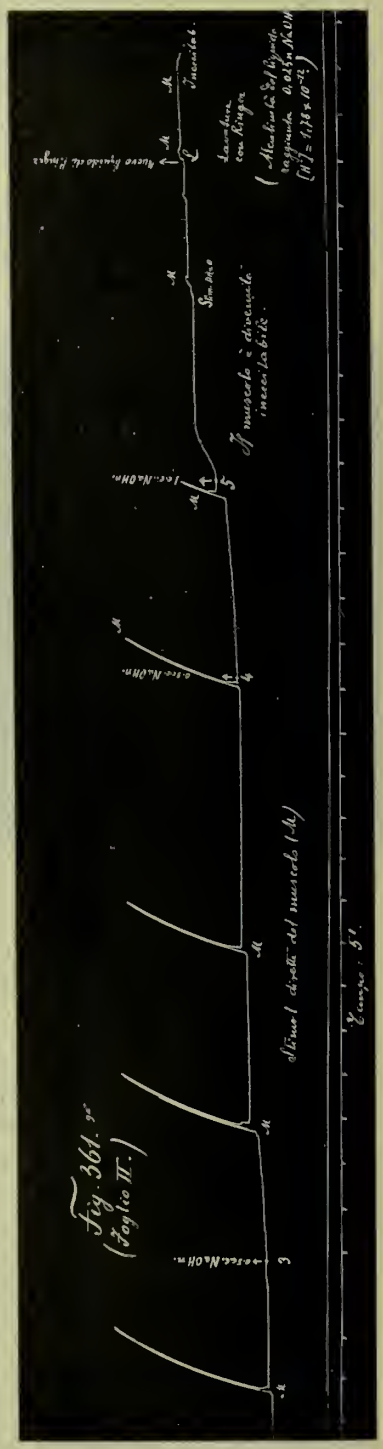


Fig. 32 (Riduz. fotografica).

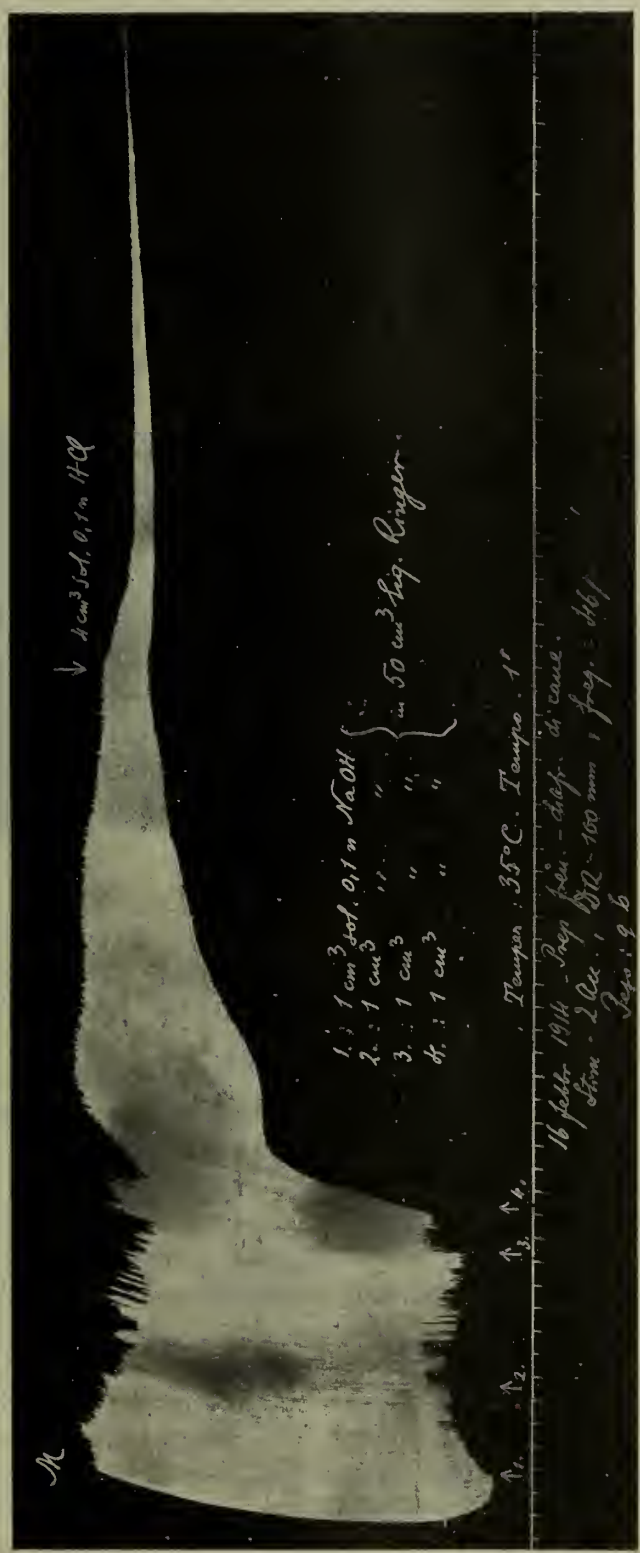


Fig. 33 (Riduz. fotografica).

la più forte contrattura, durante la quale le contrazioni ritmiche divennero sempre più alte. Questa contrattura accennò anche a risolversi; ma tosto s'iniziò l'accorciamento terminale, che finì, dopo un certo tempo, in vera rigidità del muscolo, mentre le contrazioni rapide andarono sempre diminuendo di forza. La quantità totale di soluzione 0,1 n. di NaOH aggiunta fu di 4 cm^3 su 50 cm^3 di liquido di Ringer. (Verso la fine dell'esperimento, la neutralizzazione della soda aggiunta con 4 cm^3 di sol. 0,1 n. HCl produsse solo un lievissimo allungamento del muscolo).

Nell'esperimento, cui corrisponde il tracciato della fig. 34, la stessa dose totale di NaOH produsse gli stessi effetti. Ma la seconda contrattura passò più rapidamente e indistintamente in rigidità, probabilmente perchè, per il preparato diaframmatico di gatto, più piccolo, quella dose era già troppo forte.

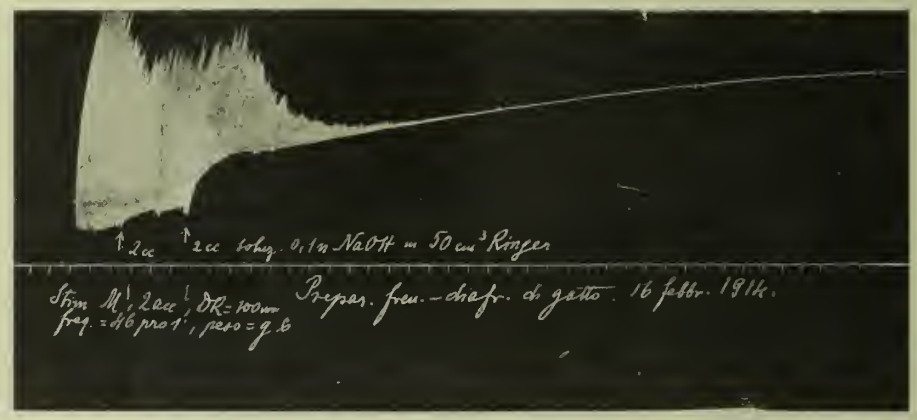


Fig. 34 (Riduz. fotografica).

Rimane pertanto dimostrato che le altezze assolute di contrazione, cioè l'eccitabilità e la contrattilità del muscolo, aumentano immediatamente dopo e per effetto dell'aggiunta di piccole dosi di acidi o di alcali; e che l'aumento può essere, o no, accompagnato da accorciamento tonico del muscolo. Quando tale accorciamento ha luogo, l'aumento dell'altezza delle contrazioni trova la sua spiegazione, in parte, nel sostenimento interno che l'accorciamento tonico esercita sulle contrazioni provocate dagli stimoli elettrici.

L'accorciamento tonico è più cospicuo, quando il muscolo è pochissimo caricato; e, molto probabilmente, quando non si osserva o è poco accentuato, dipende dal fatto che la carica del muscolo, nelle condizioni in cui si fa l'esperimento, è eccessiva.

Analogamente, per osservare un forte aumento delle altezze delle contrazioni rapide durante le contratture, è necessario, non solo di stimolarlo ad intervalli così grandi da evitare una rapida fatica, ma anche di stimolarlo con stimoli submassimali, anzi di poco più forti di quelli liminari. Si comprende, infatti, che, la sostanza aggiunta determinando nel muscolo un aumento della eccitabilità o della contrattilità, questo aumento deve sfuggire se prima dell'aggiunta il muscolo già ese-

guiva contrazioni massimali. In tali condizioni, l'effetto che si osserva non può essere altro che una progressiva diminuzione delle altezze delle contrazioni, dovuta alla fatica che invade il preparato.

Il duplice fenomeno sarà. dunque, provocato al suo massimo grado, quando un muscolo fresco e pochissimo caricato venga stimolato ritmicamente a grandi intervalli, con stimoli submassimali. Non essendo facile di realizzare nello stesso preparato tutte queste condizioni, si comprende che solo poche volte si riesce a ottenere tracciati del tutto soddisfacenti e dimostrativi.

IV. — *Azione di alcuni alcaloidi e glicosidi.*

Specialmente sull'azione della veratrina e della nicotina ho fatto un grande numero di esperimenti. Ma non solamente per questo, bensì anche perchè con questi veleni si ottengono i risultati più importanti, su essi mi fermerò maggiormente. Tuttavia non tralascerò di accennare ai resultati che riguardano l'azione di altri alcaloidi e dei glicosidi.

1. *Alcaloidi.* — Riferirò prima le mie ricerche sulla veratrina, e poi quelle sulla nicotina.

1) Veratrina. — Ho usato il nitrato e più spesso il solfato di veratrina, tutt'e due ben solubili in acqua. Come può agevolmente intendersi, l'azione che esercita la veratrina varia, secondo che la si usa in dose piccola o grande. Facendola agire in dose rilevante, alcuni effetti rilevanti sfuggono all'osservazione. Descriverò prima alcuni degli esperimenti da me fatti, per poi sottoporre a una discussione generale i resultati ottenuti.

I° esperimento, del 27 maggio 1908. — Preparato diaframmatico di cane: le stimolazioni del nervo erano già divenute inefficaci; le stimolazioni dirette del muscolo provocano contrazioni, ma non molto alte. Si aggiunsero, ai 100 cm^3 di liquido di Ringer, 0,8 cm^3 di soluzione 1 % di nitrato di veratrina. Dopo poco, il muscolo incominciò ad accorciarsi ma debolmente. Un'altra aggiunta di 3 cm^3 della stessa soluzione di veratrina provocò un ulteriore accorciamento, ma anche questo assai debole. Queste deboli reazioni alla veratrina credo dipendessero dal fatto che il muscolo era già quasi esaurito; il che dimostra che gli accorciamenti più cospicui che, come vedremo, la veratrina produsse in altri preparati, sono in relazione con lo stato di eccitabilità dei medesimi. In altre parole, la reazione tonica alla veratrina è un fenomeno vitale del muscolo, e non un effetto fisico banale. E forse. per avere il massimo effetto, è necessario che siano integre anche le giunzioni neuro-muscolari.

II° esperimento, del 3 giugno 1908. — Preparato frenico-diaframmatico di cane adulto. Le stimolazioni del nervo erano ancora, sebbene poco, efficaci. Il muscolo era rimasto, anche dopo l'immersione nel liquido di Ringer, in stato di contrattura. Durante la lenta risoluzione di questa (curva discendente), il muscolo eseguì piccole

contrazioni ritmiche spontanee; contrazioni più alte erano state provo cate da stimolazioni del nervo. Come il muscolo ebbe raggiunto un allungamento approssimativamente costante, si fece agire la veratrina, la quale produsse una cospicua contrattura. Poco dopo che il muscolo incominciò a riallungarsi, si trovò che le stimolazioni del nervo erano divenute inefficaci: la conduttività neuro-muscolare era soppressa. Le stimolazioni dirette del muscolo, invece, si dimostravano ancora efficaci, ma non molto. Le contrazioni ritmiche spontanee erano scomparse col cessare della conduttività neuro-muscolare. Lo allungamento del muscolo, dopo la prima contrattura, fu piccolissimo. Ma, fatto interessante, il muscolo, dopo poco, invece di continuare ad allungarsi, incominciò di nuovo ad accorciarsi, però molto più lentamente di prima. Questo secondo accorciamento, che ho osservato anche altre volte, differisce dal precedente: 1°) perchè è molto più lento; 2°) perchè non è seguìto da un secondo allungamento, almeno entro i limiti della durata della registrazione; 3° perchè il suo apparire coincide o è seguìto a breve distanza da ineccitabilità del muscolo, anche per stimoli relativamente forti.

III° esperimento, del 15 marzo 1911. — Preparato frenico-diaframmatico di cane adulto. Il preparato si presenta, da prima, in ottime condizioni, sebbene le contrazioni provocate da stimolazioni del nervo siano meno alte di quelle provocate mediante stimolazioni del muscolo. A un certo punto, in corrispondenza della freccia ↑ 1 (ved. fig. 35), si aggiunge 1 cm^3 di soluzione 10 % di solfato di veratrina ai 100 cm^3 di liquido di Ringer (concentrazione della veratrina = 1 : 1000). Immediatamente il muscolo entra in forte contrattura, la quale incomincia relativamente presto a risolversi; il tratto discendente della curva contratturale è accidentato, ma non presenta distinte contrazioni ritmiche. Intanto le stimolazioni del nervo si dimostrano inefficaci: la conduttività neuromuscolare è soppressa. Le stimolazioni dirette del muscolo provocano ancora contrazioni, ma assai meschine. Dopo un certo tempo, il muscolo, che pareva aver raggiunto un allungamento costante, incomincia di nuovo ad accorciarsi, ma assai lentamente, rispetto al primo accorciamento. Il secondo accorciamento raggiunge in questa esperienza un valore straordinariamente grande, come risulta dall'altezza della curva (*b*), che è continuazione della curva (*a*), nella fig. 35.

L'esistenza dei due accorciamenti distinti (*), che seguono all'azione della veratrina, fu evidentissima in questo caso; ed egualmente evidente fu il fatto che, durante il secondo accorciamento, anche il muscolo divenne del tutto ineccitabile, a giudicare dalla inefficacia delle stimolazioni ad esso applicate.

IV° esperimento, del 24 gennaio 1912. — Preparato frenico-diaframmatico sinistro di cane adulto. La conduttività neuro-muscolare è abolita. Le stimolazioni dirette del muscolo provocano contrazioni altissime. A un certo punto, si aggiunge al liquido di Ringer 1 cm^3 di soluzione 1 % solfato di veratrina. Subito il muscolo incomincia ad accorciarsi, ma poco e lentamente. Si provocano successivamente, a intervalli presso che eguali, contrazioni del muscolo con stimoli di intensità eguale a quella di prima (DR = 100 mm.). Le contrazioni diventano sempre più basse. La sostitu-

(*) Questo singolare fenomeno del duplice accorciamento fu già descritto dal mio assistente dott. G. Quagliarello ([11]), dal lavoro del quale riproduco alcune figure.

zione di liquido di Ringer fresco a quello contenente la veratrina, non migliora l'eccitabilità del muscolo, che da ultimo diventa del tutto ineccitabile. Con questa esperienza rimane confermato un fatto già osservato nelle ricerche precedenti: che, cioè, subito dopo le dosi forti, o qualche tempo dopo le dosi anche deboli di veratrina, l'eccitabilità del muscolo diminuisce, per poi scomparire del tutto. La veratrina, dunque, prima abolisce la conduttività neuro-muscolare, poi deprime e finalmente abolisce anche l'eccitabilità diretta del muscolo.

V° esperimento, del 17 aprile 1912. — Preparato frenico-diaframmatico di cane adulto. Si provocano alcune contrazioni normali con stimoli di mediocre intensità (DR = 100 mm.), per saggiare l'eccitabilità diretta del muscolo. Quindi, si aggiungono ai 100 cm³ del liquido di Ringer cm³ 0.005 di soluzione 10 % di solfato di

Fig. 35 (Riduz. fotografica).

veratrina (concentrazione della veratrina = 1 : 20000). L'accorciamento che segue è relativamente piccolo. Ma, esplorata la contrattilità muscolare poco dopo l'aggiunta della veratrina, si trova che essa si presenta notevolmente aumentata, nel senso che le contrazioni provocate durante l'inizio dell'accorciamento tonico sono notevolmente più gagliarde, più alte di quelle che precedettero l'azione dell'alcaloide. C'è dunque un periodo iniziale, durante il quale la contrattilità del preparato diaframmatico, come quella del muscolo gastrocnemio di rospo ([12, 13]), sottoposti alla azione di una dose relativamente piccola di veratrina, aumenta, a giudicare dalle altezze delle contrazioni che sono provocate da stimoli elettrici di eguale intensità. A questo aumento transitorio della eccitabilità e contrattilità del muscolo segue, però, ben presto diminuzione di esse, anche prima che si inizii il secondo accorciamento, che nel caso attuale fu molto cospicuo, non ostante che il primo fosse stato relativamente piccolo, dopo la seconda aggiunta di veratrina.

Lo stesso resultato ottenni nel VI° esperimento, del giorno 20 maggio 1912. Questo preparato frenico-diaframmatico era in ottime condizioni, da prima, come dimostrarono le contrazioni (N , M) che esso eseguì al principio dell'esperienza e che

furono provocate stimolando sia il nervo sia il muscolo. Dopo alcuni minuti, però, il muscolo incominciò a fare piccole ma frequenti contrazioni ritmiche automatiche (fig. 36), dopo le quali la conduttività neuro-muscolare, a giudicare dalla scarsa efficacia delle stimolazioni del nervo, diminuì, tanto da potersi considerare praticamente come soppressa. L'eccitabilità del muscolo, invece, era non solo ben conservata, ma anzi esaltata, rispetto a quella che era dapprima. A un certo punto (in 1.), si aggiunsero cm³ 0,1 di soluzione 10 % di solfato di veratrina ai 100 cm³ di liquido di Ringer. Il muscolo sùbito si accorciò. Le contrazioni successive, provocate stimolandolo direttamente, furono notevolmente più alte di quella che fu ottenuta prima che agisse la veratrina. L'aumento della contrattilità durò per circa un'ora, e poi incominciò a diminuire. La più cospicua diminuzione dell'eccitabilità coincise con

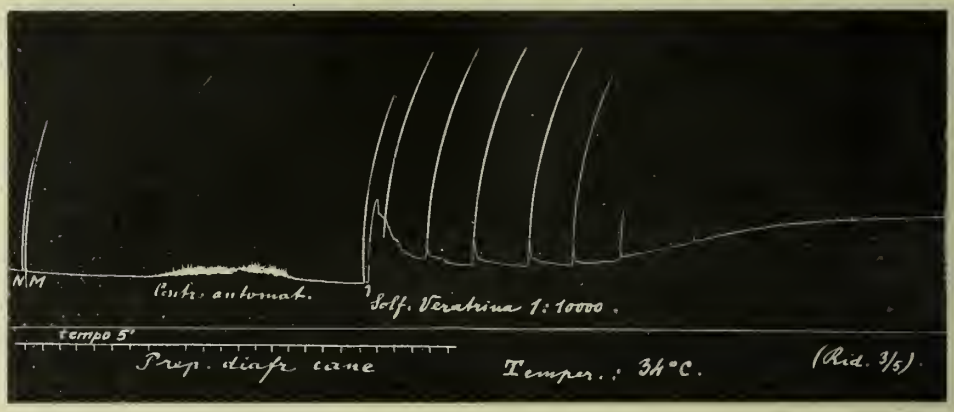


Fig. 36 (Riduz. fotografica).

l'inizio del secondo accorciamento del muscolo. Dopo un certo tempo, il muscolo divenne del tutto ineccitabile. In questo esperimento, dunque, l'aumento transitorio della contrattilità che provoca la veratrina fu evidentissimo, e coincise col primo accorciamento.

VII° esperimento, del giorno 25 maggio 1912. — Preparato frenico-diaframmatico di canino giovanissimo. L'eccitabilità del preparato e la conduttività neuro-muscolare sono ottimamente conservate. Infatti, in due coppie di contrazioni precedenti l'aggiunta della veratrina, la contrazione provocata da stimolazione del nervo è più alta di quella provocata da stimolazione diretta del muscolo. Si aggiunsero cm³ 0,05 di soluzione 10 % di solfato di veratrina ai 100 cm³ di liquido di Ringer. Il muscolo immediatamente si accorciò, e incominciò a fare contrazioni ritmiche automatiche, di cui prima non esisteva traccia; queste contrazioni ritmiche apparvero massimamente accentuate sulla cima della curva contratturale. Stimolati di nuovo il nervo e il muscolo, si ottennero contrazioni più alte delle precedenti (misurando l'altezza dall'ascissa di queste); e quella provocata da stimolazioni del nervo fu più alta di quella provocata da stimolazione del muscolo. Ma poi subito la conduttività

neuro-muscolare cessò, mentre la eccitabilità diretta del muscolo si conservò ancora per qualche tempo, anche dopo una seconda aggiunta di 0,05 cm³ della stessa soluzione di veratrina. S'iniziò, a un certo punto, il secondo accorciamento del muscolo.

In questo esperimento, incontriamo un *fatto degno di nota*, cioè la *comparsa di contrazioni ritmiche automatiche sulla cima della curva di contrattura provocata dalla veratrina.* Nel rimanente, i resultati ottenuti confermano ancora una volta quelli già descritti: *aumento dell'altezza delle contrazioni muscolari subito dopo l'azione della veratrina* (in piccola quantità), *aumento che qui avviene due volte, dopo la prima e dopo la seconda dose di alcaloide aggiunta al liquido di Ringer*; *presenza di un primo e di un secondo accorciamento del muscolo, separati da un allungamento più o meno cospicuo e durevole*; *cessazione della conduttività neuro-*

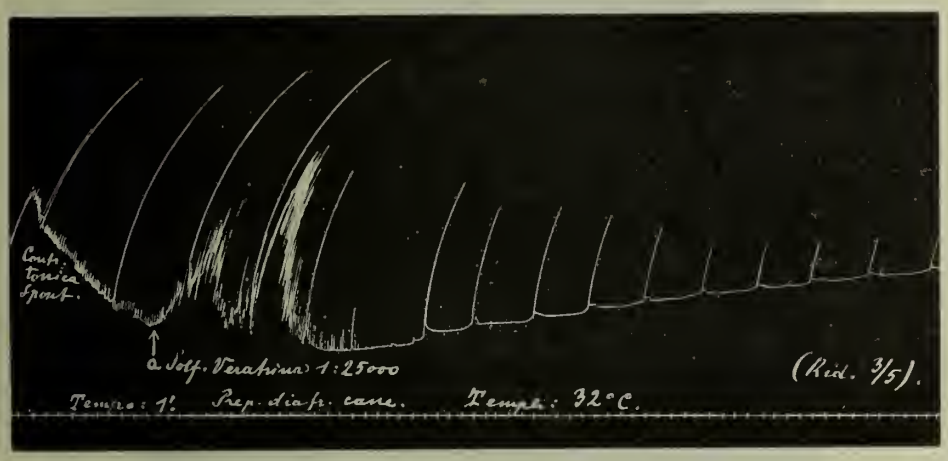


Fig. 37 (Riduz. fotografica).

muscolare, assai precoce; *coincidenza, o quasi, della diminuzione e poi della cessazione della contrattilità muscolare col prindncipio del secoo accorciamento.*

Il fatto della comparsa delle contrazioni ritmiche dopo la prima aggiunta di veratrina, cioè che questo alcaloide eccita le contrazioni ritmiche in un preparato neuro-muscolare molto eccitabile, era stato già da me osservato precedentemente ([12]) nei muscoli striati del rospo, e si trova accennato anche in un'altra parte di questo lavoro (ved. sopra). Il fenomeno si osserva anche nella fig. 37. Questo preparato già faceva contrazioni ritmiche spontanee, che diminuirono dopo alcune stimolazioni elettriche. Quando il muscolo ebbe raggiunto un certo grado di allungamento, si aggiunse al liquido di Ringer la soluzione di veratrina. Immediatamente il muscolo reagì con una contrattura, sulla cima della quale apparvero contrazioni ritmiche assai frequenti ed alte. Poi il muscolo accennò ad istendersi spontaneamente; ma intervenne quasi subito un'altra contrattura accompagnata da contrazioni ritmiche automatiche ancora più forti. Quindi il muscolo tornò una terza volta ad allungarsi, sempre agitato da forti scosse muscolari. Finalmente, il preparato incominciò ad eseguire un lento accorciamento, corrispondente a quello che ho chiamato terminale.

Come il tracciato della fig. 37 dimostra all'evidenza le contrazioni rapide provocate con stimoli elettrici unici durante gli accorciamenti tonici iniziali, quando cioè il preparato compie cospicue oscillazioni del tono e forti contrazioni ritmiche automatiche, sono straordinariamente alte; mentre poi quelle che si elevano sul primo tratto dell'accorciamento terminale diminuiscono mano mano di altezza.

Il progressivo aumento dell'altezza delle contrazioni rapide dopo l'azione di dosi minime di veratrina risulta chiaramente anche dalla fig. 38. In questo esperimento,

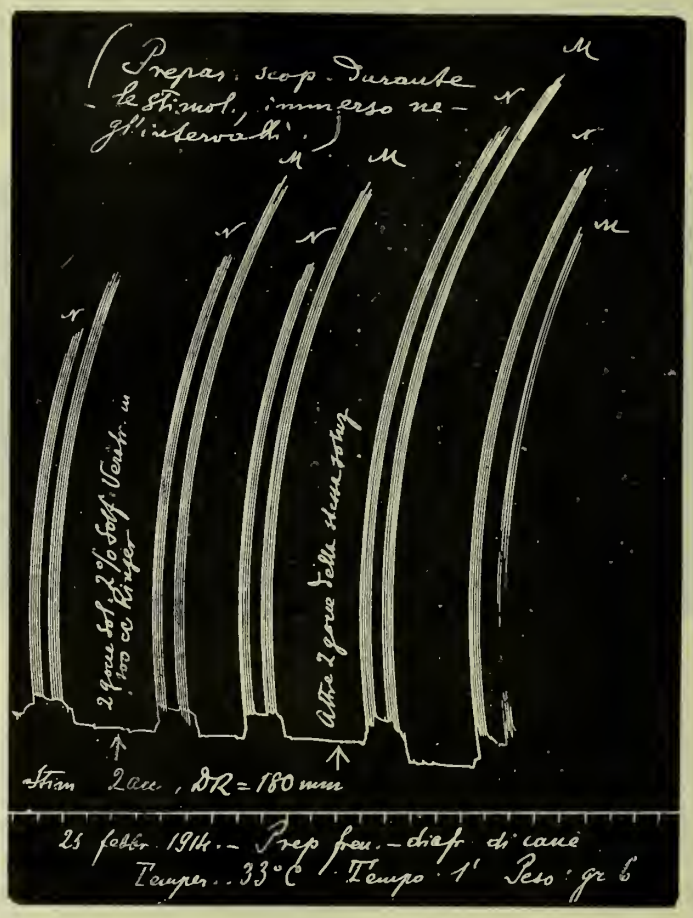


Fig. 38 (Riduz. fotografica).

il preparato non entrò in contrattura. Furono solamente aggiunte prima 2 gocce e poi 2 altre gocce (in corrispondenza delle due frecce) di soluzione 2 % di solfato di veratrina a 100 cm³ di liquido di Ringer! Il massimo aumento si ebbe subito dopo la seconda aggiunta. Gli aumenti, che si osservano nelle contrazioni provocate stimolando tanto il nervo quanto il muscolo, furono però di brevissima durata. L'esperimento dimostra, che le contrazioni possono aumentare di altezza, dopo l'azione della veratrina, anche se questa non provoca accorciamento tonico del muscolo; e che la conduttività neuro-muscolare non è alterata subito dalla veratrina, ma anzi passa anch'essa probabilmente per una fase di esaltazione prima di dimostrarsi depressa.

2) *Nicotina.* — Usai la nicotina Merck, pura o in soluzione in liquido di Ringer. I resultati ottenuti possono essere riassunti brevemente nel modo seguente:

I° Esperimento. — Dosi piccole di nicotina (tali da portare la concentrazione dell'alcaloide nel liquido di Ringer, in cui è immerso il muscolo, prima a 1:2000 e poi a 1:1000) sono sufficienti ad abolire la conduttività neuro-muscolare, cioè a bloccare gl'impulsi nervei a livello delle giunzioni neuro-muscolari, senza provocare un grande accorciamento tonico del muscolo, e senza alterare profondamente la contrattilità di esso. In questo esperimento, il preparato neuro-muscolare era eccitabilissimo; e le contrazioni, provocate stimolando sia il nervo come il muscolo, erano molto alte. Ma pochi minuti dopo l'aggiunta della prima dose di nicotina (concentrazione totale = 1:2000), le stimolazioni del nervo apparvero già inefficaci, mentre il muscolo continuò a reagire ancora per molto tempo alle stimolazioni dirette; e anche dopo la seconda aggiunta di nicotina (concentrazione totale = 1:1000), si ebbero contrazioni gagliarde, seguite da un cospicuo accorciamento residuale. Un lieve accorciamento s'iniziò nel muscolo sùbito dopo la prima aggiunta; ma la curva muscolare si elevò poco sull'asse delle ascisse.

II° Esperimento. — Il preparato presentava già una spiccata tendenza alla contrattura spontanea, al momento in cui si fece agire su esso una dose, relativamente piccola, di nicotina, tale da raggiungere la concentrazione totale 1:5000. Il muscolo continuò ad accorciarsi, senza però dimostrare di aver risentito alcuna influenza dall'aggiunta della nicotina, perchè la curva non presentò alcuna inflessione in corrispondenza del punto in cui l'alcaloide fu aggiunto. Ma la piccolissima dose del veleno fu egualmente capace di abolire, sebbene con maggiore ritardo, la contrattilità muscolare, come dimostra il fatto che alla quarta stimolazione il muscolo non reagì più. Da ultimo, il muscolo incominciò ad allungarsi.

III° Esperimento. — Gli stessi risultati, con la differenza, però, che, in questo caso, sebbene la dose di nicotina fatta agire sul preparato non fosse maggiore che nei casi precedenti, si osservò un notevole accorciamento del muscolo, durante il quale l'eccitabilità muscolare si dimostrò conservata, mentre gl'impulsi nervei più non passavano per le giunzioni neuro-muscolari.

Qui si ripete il fenomeno, già rilevato negli esperimenti colla veratrina: cioè che le contrazioni, che il muscolo eseguisce durante l'accorciamento che segue immediatamente all'azione del veleno, sebbene appariscano eguali o un poco più basse delle normali, quando si misuri la loro altezza a partire dalla curva tonica sulla quale realmente si elevano sono in realtà più alte delle contrazioni normali, se la loro altezza è misurata a partire dall'ascissa primitiva. Qui, come negli esperimenti, con la veratrina, dunque, quando la dose della nicotina non è tanto grande da alterare notevolmente la contrattilità del muscolo, l'accorciamento provocato dalla nicotina fa da sostenimento interno al muscolo, il quale per ciò, nelle contrazioni rapide provocate da stimoli unici di corrente indotta, può raggiungere un accorciamento totale (somma dell'accorciamento durevole e dell'accorciamento rapido), quale altrimenti non raggiunge nelle contrazioni uniche ordinarie.

Durante l'azione della nicotina, come durante quella della veratrina, esiste dunque un periodo più o meno lungo, secondo la dose di alcaloide usata e le con-

dizioni di eccitabilità del preparato, durante il quale l'accorciamento iniziale coincide con un aumento della contrattilità totale del muscolo.

La resistenza del muscolo alla nicotina sembra essere, almeno in alcuni casi, maggiore di quella che esso presenta alla veratrina. In uno di questi esperimenti, infatti, fu pennellato il muscolo, dopo aver aspirato il liquido di Ringer, con soluzione 1:10 di nicotina; e ciò non ostante, parecchio tempo dopo e mentre durava sempre l'accorciamenio, le stimolazioni fortissime (DR = 10 mm.) dirette si dimostrarono ancora capaci di provocare contrazioni abbastanza vigorose, con tendenza spiccata a sovrapporsi. La persistenza della eccitabilità, però, in questi casi, può spiegarsi ammettendo che siano colpite principalmente le fibre superficiali, cioè quelle sulle quali agisce immediatamente la nicotina, e che agli stimoli il muscolo risponda con le sue fibre centrali.

Fig. 39 (Riduz. fotografica).

Se però la dose della nicotina è molta forte, in guisa da raggiungersi la concentrazione totale 1:100, la contrattilità muscolare presto sparisce, mentre l'accorciamento del muscolo è addirittura colossale (fig. 39).

Il preparato frenico-diaframmatico di gatto non si comporta diversamente da quello di cane, rispetto alla nicotina. In un esperimento fatto su tale preparato, una prima dose (concentrazione totale della nicotina = 1:1000) produsse subito abolizione della conduttività neuro-muscolare, mentre una seconda dose, assai più forte (concentrazione totale della nicotina = 1:200), produsse un notevole accorciamento e abolizione della contrattilità muscolare.

Langley ([14]) ha osservato che il curaro esercita un'azione antagonista a quella della nicotina. Io ho potuto confermare il fatto sul preparato frenico-diaframmatico. Tolto il liquido di Ringer, in cui era immerso un preparato molto eccitabile di cane, feci cadere sul muscolo circa dieci gocce di soluzione 1:10 di nicotina. Il muscolo sùbito si accorciò fortemente. Ma quando ebbe raggiunto il massimo accorciamento, si fece cadere su esso una dozzina di gocce di una soluzione 1 % di curaro. Il muscolo subito si allungò, ma non tanto da tornare alla primitiva ascissa. Dopo un

certo tempo, durante il quale la contrattilità muscolare apparve mediocremente conservata, si fece agire di nuovo la stessa soluzione di nicotina, che produsse un nuovo accorciamento.

In base agli esperimenti sopra riferiti, possiamo formulare le seguenti conclusioni:

1) A simiglianza della veratrina, la nicotina provoca accorciamento durevole del preparato diaframmatico, senza alterarne profondamente, a piccole dosi, la contrattilità, sebbene abolisca subito la conduttività neuro-muscolare, esercitando sulle giunzioni neuro-muscolari un'azione analoga a quella del curaro ([15]).

2) Contrariamente alla veratrina, la nicotina non ha provocato, nei miei esperimenti, mai contrazioni ritmiche spontanee, nè una contrattura primaria breve distinta da un accorciamento secondario più lungo. L'accorciamento nicotinico pare che corrisponda piuttosto al secondo veratrinico, o meglio, all'insieme indistinto del primo e del secondo accorciamento veratrinico, perchè, come questo, è molto duraturo e persistente.

3) Mentre la nicotina sembra essere un veleno, altrettanto potente quanto la veratrina, per le giunzioni neuro-muscolari, la veratrina pare che alteri, a dose eguale, più presto e più profondamente della nicotina la contrattilità muscolare. Infatti, la tossicità della veratrina è molto superiore a quella della nicotina, a giudicare dalle dosi in cui bisogna far agire i due alcaloidi per ottenere gli effetti sopra descritti.

Da altre mie osservazioni risulta poi quanto segue:

a) che sul preparato diaframmatico di feto di bue, l' « ipofisina » e la « tenosina » Bayer non esercitano (come, del resto, non l'esercitano nemmeno sul preparato diaframmatico di animali adulti) alcuna azione contratturante, che lontanamente somigli a quella che esercitano sui muscoli lisci, e, nel caso speciale dei miei esperimenti, sul muscolo retrattore del pene dello stesso feto di bue (o di animale adulto);

b) che la nicotina (e lo stesso può dirsi della veratrina) provoca fortissimo accorciamento del preparato diaframmatico fetale, come del preparato diaframmatico di animale adulto.

Per quanto riguarda, dunque, l'azione delle dette sostanze, differenze qualitative degne di nota fra i muscoli fetali e quelli degli animali adulti non esistono.

3) *Cocaina.* — La cocaina, aggiunta in forma di cloridrato sino alla concentrazione di 1:2000, nel liquido di Ringer dove era immerso il preparato diaframmatico, non produsse mai notevole accorciamento. Per quanto riguarda la eccitabilità e la contrattilità, pare che ambedue queste proprietà fisiologiche siano un poco depresse dalla cocaina; ma non potrei nemmeno affermarlo con sicurezza. In un caso, il preparato reagiva con contrazioni enormemente alte alle stimolazioni del nervo, ed esse presentavano anche un accorciamento residuale cospicuo, che (fatto interessante) veniva soppresso dalla successiva stimolazione diretta del muscolo. D'accordo con la grande eccitabilità del preparato stavano le contrazioni spontanee che esso eseguiva. Ebbene, dopo l'aggiunta della cocaina, parve che la conduttività neuromuscolare incominciasse a scemare, per poi cessare del tutto.

Intanto comparve un fenomeno singolare, mai osservato in altri casi. Non appena si aspirava il liquido, ed il muscolo rimaneva all'asciutto, per poi stimolarlo, esso si accorciava spontaneamente. Sopraggiungeva la stimolazione diretta (giacchè la stimolazione del nervo era ormai inefficace): il muscolo si contraeva, ma non tornava al grado di allungamento iniziale, se non dopo che era stato rimesso il liquido nel cilindro sino a ricoprire totalmente il preparato. Questo fatto si ripetè, con varia intensità, più volte di seguito (8 volte; ma forse si sarebbe ripetuto ancora, se non avessi interrotto l'esperimento), e la contrazione rapida, provocata dallo stimolo elettrico, cadeva in momenti diversi della contrazione tonica. Io non saprei come spiegare il fenomeno descritto; ma certo, prima di considerarlo come dovuto alla azione della cocaina, è necessario ripetere più volte l'esperimento.

4) La *fisostigmina* non esercita una influenza notevole nè sul tono nè sulla eccitabilità del preparato frenico-diaframmatico.

5) Ho voluto sperimentare anche l'azione della *muscarina* e della *atropina*.

Il *cloridrato di muscarina*, fatto agire alla concentrazione di 1:10000, non esercita influenza degna di nota, nè sul tono nè sulla eccitabilità diretta del muscolo, il quale, in un esperimento, dieci ore dopo l'aggiunta della sostanza, era sempre eccitabilissimo. Un lieve aumento del tono, che seguì alla distanza di circa 5 minuti dall'aggiunta della muscarina, non può essere imputato all'alcaloide, essendo troppo tardivo. L'accorciamento, che da ultimo presentò il muscolo, non differì da quello che si osserva in condizioni ordinarie di sopravvivenza del preparato. Quanto alla conduttività neuro-muscolare, essa diminuì, senza nemmeno scomparire del tutto, troppo tempo dopo l'aggiunta della muscarina, per avere il diritto di supporre che la detta diminuzione fosse effetto di tale aggiunta.

La *atropina* (solfato), negli erperimenti che qui sono presi in considerazione, non dimostrò di esercitare un'azione rilevante, nè sul tono, nè sulla contrattilità del muscolo, che rimase integra per più ore di seguito, nè sulla conduttività neuro-muscolare, che non potrei dire si presentasse, nelle esperienze relative, diminuita o abolita in un tempo più breve di quello che avviene in condizioni ordinarie.

In un esperimento, la conduttività neuro-muscolare apparve depressa relativamente presto, dopo l'aggiunta della atropina; ma ciò accade tutte le volte che il preparato neuro-muscolare presenta spontaneamente, come nel caso al quale accenno, un accorciamento tonico iniziale; e del resto, se essa diminuì, si mantenne però, ancorchè diminuita, per un tempo assai lungo.

In un altro esperimento (ved. fig. 40), la conduttività neuro-muscolare parve che cessasse appunto dopo l'azione dell'atropina. In questo caso, confrontando gli effetti delle stimolazioni del nervo (N) prima e dopo l'aggiunta dell'atropina (concentrazione totale = 1:5000), fui indotto per un momento a credere che l'atropina agisse almeno sulle giunzioni neuro-muscolari, rendendole impervie agli eccitamenti nervosi. Ma altri esperimenti non dettero resultato analogo; anzi, per lo più, le stimolazioni del nervo rimasero efficaci per parecchio tempo (in un caso, 80 minuti) dopo l'aggiunta dell'atropina, sebbene le rispettive contrazioni del muscolo scemassero gradualmente di altezza, dapprima rapidamente, e poi lentamente.

Io mi propongo di fare altre ricerche sull'azione della muscarina e dell'atropina.

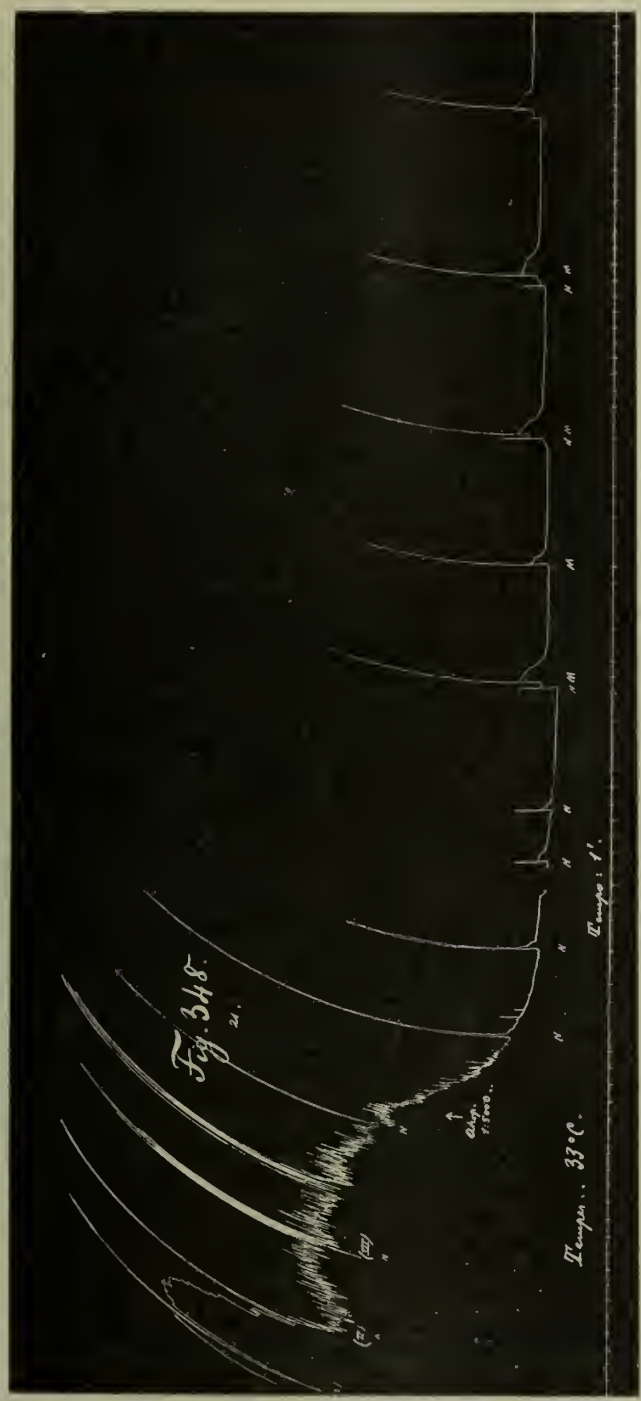


Fig. 40 (Riduz. fotografica).

Ma fin da ora si può dire che questi alcaloidi, come la fisostigmina e la cocaina, non possono essere annoverati nel gruppo di quelle sostanze che agiscono in modo assai cospicuo, preciso e costante sulla conduttività neuro-muscolare, o sul tono o

sulla contrattilità dei muscoli striati, cioè nel gruppo della curarina, della veratrina, della nicotina ecc.

Se, dunque, la muscarina e l'atropina, la pilocarpina, la fisostigmina, la cocaina ecc., esercitano sul cuore e sugli organi muscolari lisci, isolati dal corpo, un'influenza assai cospicua, anche a dosi relativamente piccole, sul ritmo motorio automatico e sul tono, si ha ragione di credere che le dette sostanze agiscono piuttosto, o sugli apparati nervosi gangliari locali, o sopra sostanze ricettive specifiche esistenti nelle rispettive giunzioni neuro-muscolari: certamente non sulle sostanze contrattili.

La muscarina, l'atropina, la cocaina ecc. non esercitano un'azione caratteristica e molto cospicua sui muscoli striati, come non ve la esercitano gli ormoni più noti ed attivissimi sugli organi muscolari lisci, quali l'adrenalina e l'ipofisina, nè le sostanze del tipo della β-imidoazoliletilamina o della paraossifeniletilamina. Per queste sostanze, le giunzioni neuro-muscolari dei muscoli striati non contengono sostanze ricettive specifiche.

Mi sia lecito di aggiungere qui, sebbene la sostanza di cui parlo non abbia alcuna relazione con quelle sopra sperimentate, che nemmeno la creatina, sebbene fatta agire in dosi generose, esercita notevole influenza sul preparato frenico-diaframmatico. Non ho fatto molti esperimenti; ma quei pochi eseguiti non confermano per nulla quanto scrisse il Ranke ([16]), secondo cui la creatina agirebbe sui muscoli striati press'a poco come l'acido lattico (*).

II. — *Di alcuni fenomeni, in particolare, che si osservano durante l'azione di alcune delle sostanze sopra studiate.*

I fenomeni, ai quali accenno, sono: la distinzione di un primo da un secondo accorciamento durevole, separati da rilassamento spontaneo del muscolo; la comparsa di piccole contrazioni ritmiche rapide, durante questi accorciamenti; l'aumento o diminuzione delle altezze delle contrazioni provocate con stimoli unici etc.

L'allungamento del muscolo seguente all'accorciamento tonico iniziale fu constatato anche da Burridge ([17]), dopo l'azione dell'acido lattico (fig. 3 del lavoro di questo autore), e dopo l'azione della nicotina su un sartorio di rana già trattato con curaro (fig. 7 dello stesso lavoro). Fu constatato anche da Kopyloff ([18]), dopo l'azione dell'acido lattico (figg. 4 *a* e 5 *b* del lavoro di questo autore). Non pare che siasi mai presentato, dopo l'azione della nicotina, nei tracciati di Langley, nè in quelli di Burridge, nè nei miei. Del resto, lo stesso Kopyloff dice (pag. 226) che non è costante. Io credo che esso sia un accenno alla reversibilità dell'azione che lo determina, quale meglio si ottiene lavando il preparato con liquido di Ringer normale, e quale è affermata da Kopyloff per gli acidi, da Langley per la nicotina. Infatti, l'azione degli acidi e delle altre sostanze contratturanti diventa irreversibile, solo quando è troppo intensa. L'irreversibilità dell'azione degli acidi, della veratrina e della nicotina è più facile a raggiungersi nei muscoli degli animali omeotermi, i quali alle

(*) A pag. 364 della sua opera, Ranke scrisse: « Dabei ist das Kreatin ebenso wie die Milchsäure ein Muskelreiz, die Muskeln kommen bei dem Einspritzen desselben in Zuckungen ». E già a pag. 60 si legge: « ... das Kreatin, ebenso wie die Milchsäure bei dem Einspritzen allgemeine Muskelcontractionen am Curarefrosch hervorrief ». Può darsi che, inicettata nel corpo dell'animale, la creatina eserciti un'influenza, che non si osserva più quando è fatta agire sul muscolo isolato.

dette sostanze presentano una resistenza minore di quella che presentano i muscoli dei pecilotermi.

Gli accorciamenti durevoli provocati dalle dette sostanze, in alcuni casi sono colossali. Kopyloff, che ha sperimentato gli acidi lattico, acetico, cloridrico e solforico, dice: « In manchen Fällen erreicht die Kontraktur Tetanushöhe ». Nei miei esperimenti, fortissimi furono gli accorciamenti provocati in alcuni casi dagli acidi, dalla veratrina e dalla NaOH.

Kopyloff dice che durante l'accorciamento gli stimoli massimali provocano piccole contrazioni, che aumentano quando il muscolo si allunga. Ciò deve intendersi nel senso, che piccole sono le contrazioni, misurandole dal punto della curva su cui si elevano; ma per esse il muscolo raggiunge un accorciamento totale assai grande, se vi si comprende il suo accorciamento durevole. Le dette contrazioni somigliano a quelle del muscolo che si contrae con sostegno esterno (von Frey, [19]). Certo è che durante l'accorciamento durevole il muscolo rimane, per lo più, eccitabile; e che le contrazioni, elevantisi sul medesimo, talora si approssimano all'altezza del tetano. Ciò resulta evidentemente dalle figure del Kopyloff e dalle mie, riguardanti l'azione specialmente della veratrina e della NaOH.

Kopyloff dice che, a parità di concentrazione dell'acido, gli accorciamenti dei muscoli di *Rana temporaria* possono esser perfino cinque volte più alti di quelli che si ottengono dai muscoli di *Rana esculenta*; e che il conservare le rane per qualche tempo a bassa temperatura, fa aumentare le altezze di tali accorciamenti durevoli. Ciò si comprende facilmente dal punto di vista della teoria del sarcoplasma. Lo stesso si osserverebbe, probabilmente, nei muscoli di rospo. Infatti, i muscoli di *Rana temporaria*, come quelli di rospo, sono più tonici di quelli di *Rana esculenta*; e il freddo esalta notoriamente la funzione tonica, come dimostra il fatto che, durante l'estate, se si vogliono ottenere cospicue oscillazioni del tono dell'atrio cardiaco di *Emys europaea*, bisogna raffreddare gli animali per qualche tempo prima di fare l'esperimento. A queste osservazioni non contraddice il fatto osservato da Kopyloff, che, dato uno stesso animale, « bei höherer Versuchstemperatur sind der Kontrakturen (ebenso wie die maximalen Zuckungshöhen) höher als bei niederen Temperaturen (untersucht von 10-26° C.) ». Infatti, a certe temperature, interviene la contrattura (reversibile) da caldo, che è fenomeno essenzialmente d'origine sarcoplasmica, come ogni altra contrattura (reversibile).

Torniamo, ancora per un momento, sul fenomeno del doppio accorciamento sopra descritto. Ammesso che ogni durevole accorciamento dei muscoli è un fenomeno dipendente essenzialmente dalla contrattilità del sarcoplasma, io interpreto il fenomeno nel senso che il primo accorciamento sia da considerarsi come dovuto a eccitamento del sarcoplasma, mentre il secondo accorciamento corrisponderebbe, alla fine, a rigidità delle fibre muscolari. Burrydge ([17]) invece, avendo confermato che l'accorciamento avviene in due stadii per tutte le sostanze contratturanti (acido lattico, alcool, cloroformio, nicotina e sali biliari), sostiene che « the first is reached quickly (surface shortening), the second stage is reached at much slower rate (deep shortening) » (pag. 381). Da queste parole si potrebbe desumere che, secondo l'A., i due accorciamenti fossero dovuti, il primo all'azione della sostanza sulle fibre superficiali, il

secondo all'azione sulle fibre profonde del muscolo. Ma questa è una interpretazione che non mi sembra corretta: in primo luogo, perchè in tal caso non si capirebbe l'incostanza del fenomeno e il diverso grado in cui si presenta, a parità di dose della sostanza contratturante adoperata; e in secondo luogo, perchè bisognerebbe ammettere, a un certo momento, una diminuzione della velocità di diffusione della sostanza verso l'interno del muscolo, che non abbiamo alcuna ragione per ammettere: ovvero, come osserva Kopyloff, che le fibre superficiali fossero già in fase di allungamento prima che incominci lo accorciamento delle fibre più profonde.

Quanto alle contrazioni fibrillari, esse furono osservate anche da Burridge, in seguito alla azione dell'acido lattico (sulle curve, però, non sono visibili). Di esse l'A. dice che « seem to be present only while the muscle is shortening, ceasing when the shortening is completed ». Io ho visto che le contrazioni ritmiche rapide, per lo più, coincidono col primo accorciamento tonico; ma si presentano anche durante l'allungamento del muscolo, che segue al primo accorciamento, e perfino indipendentemente da qualsiasi accorciamento tonico. È vero, inoltre, che non si presentano mai durante il secondo accorciamento, che termina in rigidità.

Questo fatto costituisce per me una prova a sostegno del mio modo di vedere, che contrazioni fibrillari e primo accorciamento tonico coincidono con un periodo di esaltata eccitabilità delle regioni neurali, cioè delle giunzioni neuro-muscolari. Le hanno osservate, in seguito all'azione di varî acidi, anche Dale e Mines ([20]).

Recentemente, Birnbacher ([9]) ha pubblicato un'osservazione, che corrisponde a un fatto osservato anche in questo laboratorio, indipendentemente e prima della detta pubblicazione: e cioè che il gastrocnemio di rana fresco, immerso in succo muscolare ottenuto per spremitura al torchio idraulico, si accorcia subito, derivi il succo da muscoli freschi o da muscoli già irrigiditi. Il mio assistente dott. G. Quagliariello ha osservato la stessa azione contratturante del succo muscolare, oltre che sul preparato diaframmatico, anche sul muscolo (liscio) retrattore del pene (di cane) e su altri preparati muscolari lisci. Interessante è il fatto, osservato da Birnbacher, che le sostanze contratturanti contenute nel succo muscolare sono termostabili e dializzabili. Si potrebbe quindi credere che esse fossero acido lattico e fosfati acidi. Ma l'A. nega ciò, avendo visto che la neutralizzazione del succo o del dializzato non impedisce l'azione contratturante. Egli quindi crede che si tratti di sostanze speciali, le quali si formano durante la morte del muscolo. D'accordo con questo suo modo di vedere starebbe il fatto che i muscoli accorciatisi in succo muscolare non presentano aumento di peso (per imbibizione), mentre lo presentano quando si accorciano in soluzioni di acido lattico e di acido fosforico. Finalmente, il succo di muscoli morti in presenza di ossigeno sotto pressione non esercita azione contratturante. Le sostanze contratturanti si formerebbero, quindi, secondo l'A., nella morte per asfissia del muscolo, ed agirebbero esercitando una stimolazione chimica diretta sulla sostanza muscolare. In conclusione, sarebbe questo un caso di contrattura muscolare senza imbibizione, che perciò starebbe contro la teoria, ora dominante, della rigidità (ved. appresso). Giacchè, si può anche ammettere che sostanze speciali di natura ignota, contenute nel succo, stimolino il muscolo: ma da questa stimolazione, come da quella prodotta dalla veratrina, nicotina ecc., dovrebbero nascere acidi, che a loro volta determine-

rebbero l'accorciamento per imbibizione. Ma l'A. nega l'aumento del peso del muscolo; dunque non si può parlare di imbibizione, dice lui. È questa mancanza di aumento del peso, in fondo, che fa negare all'A. l'influenza degli acidi. Comunque sia, prima di considerare i risultati di Birnbacher come capaci di infirmare l'odierna teoria dell'imbibizione, sarebbe bene che fossero sottoposti a ripetuto controllo sperimentale.

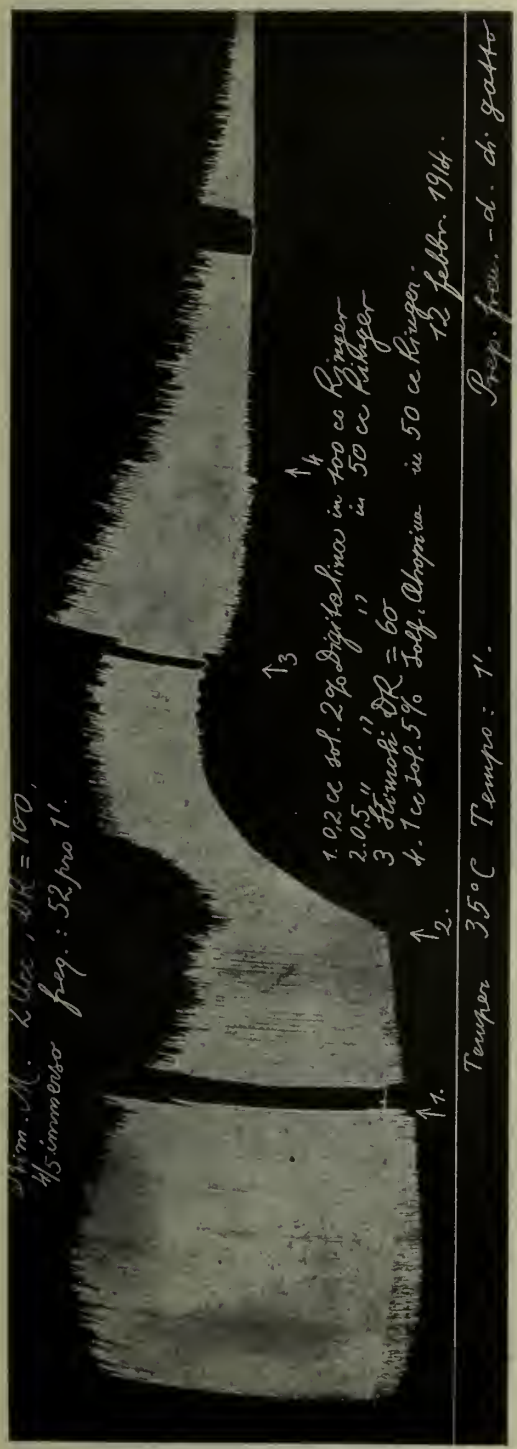


Fig. 41 (Grandezza naturale).

III. — *Azione di alcuni glicosidi.*

I tracciati delle figg. 41, 42 e 43 dimostrano gli effetti che produce la digitalina nel preparato diaframmatico di gatto e di cane.

Fig. 41; 12 febbraio 1914. Prepar. diafr. di gatto. La prima aggiunta di digitalina (0,2 cm³ di soluzione 2 % in 100 cm³ di liq. di Ringer) provoca subito (in *1*) prima aumento, poi diminuzione delle altezze delle contrazioni rapide provocate con stimoli unici (2 acc., DR = 100 mm., muscolo per $^1/_5$ immerso nel liquido di Ringer) della frequenza di 52 al 1'. Dopo un breve periodo di riposo, le contrazioni presentarono evidente il fenomeno della scala. Il muscolo si accorciò tonicamente, ma pochissimo. Una seconda aggiunta (in *2*) di 0,5 cm³ della stessa soluzione, provocò un forte accorciamento tonico, che da ultimo passò indistintamente in rigidità. Il muscolo tuttavia rimase eccitabile, e le contrazioni elevantisi sulla prima parte dell'accorciamento raggiunsero l'altezza di quelle che precedettero l'azione della digitalina.

(In *3*, fu rinforzato lo stimolo; in *4*, l'aggiunta di atropina non produsse il minimo allungamento del muscolo).

Il transitorio aumento dell'altezza delle contrazioni è più cospicuo nella fig. 42. Si trattava d'un preparato diaframmatico di cane, che si dimostrò meno sensibile di quello del gatto all'azione della digitalina. Il primo gruppo (a sinistra, nella figura) di contrazioni fu eseguito prima dell'aggiunta del glicoside. Questo produsse un lieve accorciamento tonico. Le contrazioni del secondo gruppo sono più alte di quelle del primo. Dopo altre aggiunte di digitalina, però, le contrazioni diminuirono

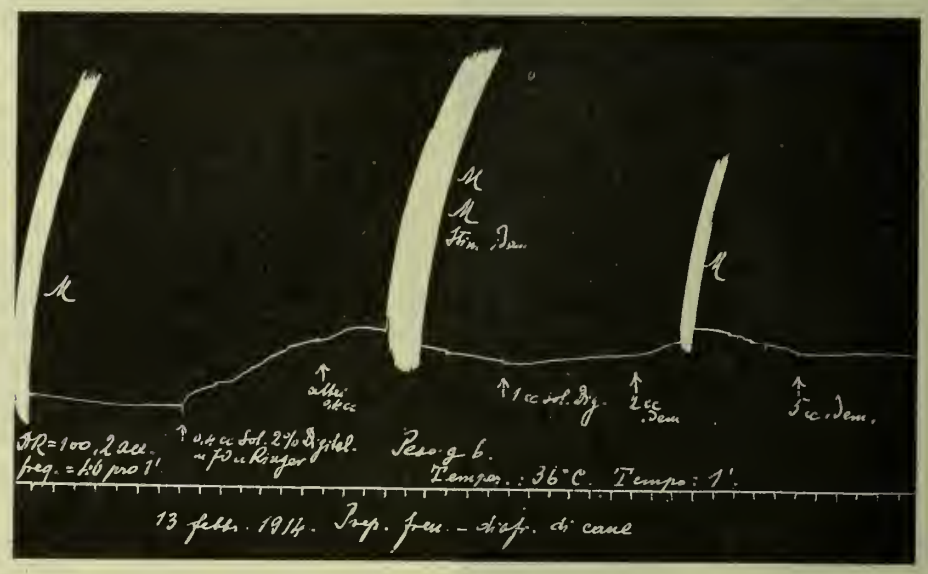


Fig. 42 (Riduz. fotografica).

di altezza, sebbene il muscolo non presentasse un accorciamento, in rigidità, molto forte.

La rigidità prodotta dalla digitalina è dimostrata nettamente dal tracciato della figura 43. Qui si vede che l'unica aggiunta, che fu fatta (in corrispondenza della freccia ↑), di digitatina, produsse immediatamente un cospicuo aumento dell'altezza delle contrazioni, e sùbito un rapido e forte accorciamento. A un certo punto, si lavò il preparato con liquido di Ringer normale tiepido, due volte di seguito (i tre gruppi di contrazioni più alte, registrati durante la lavatura del preparato, corrispondono ai periodi durante i quali il muscolo, rimanendo all'asciutto, veniva ad essere, di conseguenza, stimolato più fortemente). La lavatura ebbe per effetto un lieve allungamento del muscolo, che però sùbito dopo tornò ad accorciarsi in rigidità, essendo già divenuto ineccitabile per gli stimoli che avevano prima provocato le contrazioni che si veggono nella figura. Senza dubbio, l'accorciamento tonico iniziale sarebbe passato indistintamente in rigidità, se il muscolo non fosse stato lavato.

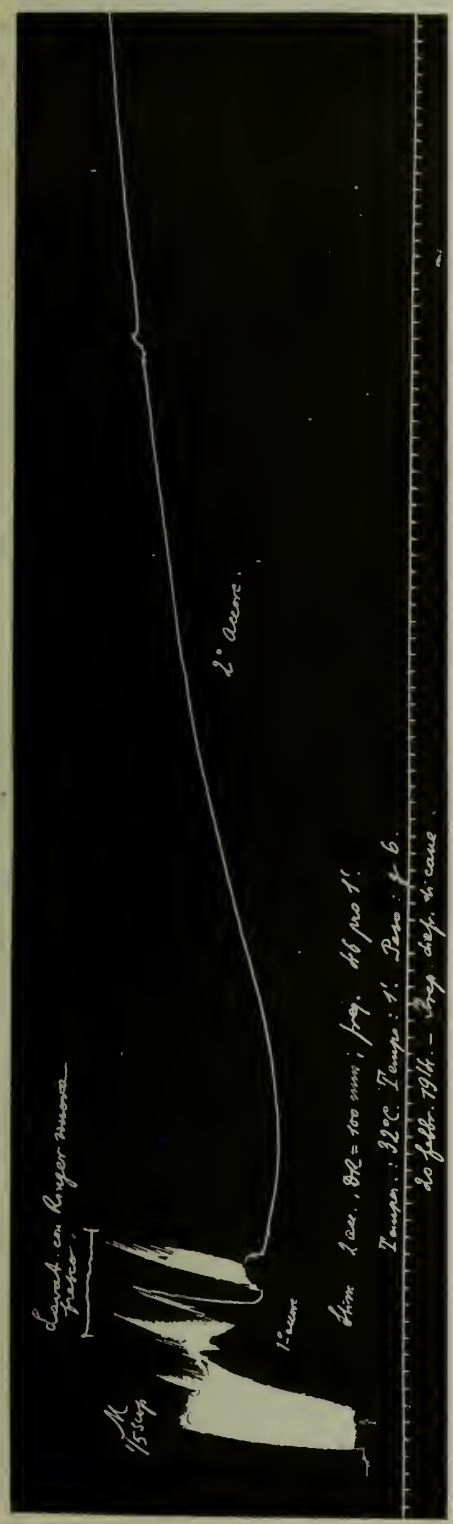


Fig. 43 (Riduz. fotografica).

La digitalina e l'elleboreina (che agisce press'a poco come la digitalina) sono veleni potentissimi per i muscoli striati, nei quali determinano, in dosi minime, accorciamento tonico, mentre le dosi più forti provocano un accorciamento che presto passa in rigidità.

IV. — *Azione del cloroformio.*

Ho fatto agire sempre il cloroformio in forma di vapore misto all'ossigeno gorgogliante per il liquido di Ringer, in cui si trovava sospeso il preparato diaframmatico. Intercalata una bottiglia di Woolff, contenente al fondo uno strato di cloroformio puro, fra quelle per dove passa l'ossigeno per lavarsi e la camera in cui il muscolo è sospeso, si comprende che io posso, a un certo momento, far gorgogliare l'ossigeno, già lavato, per il cloroformio, prima di farlo giungere al liquido di Ringer, e per questo, al muscolo. Operando in questo modo, si può graduare a volontà e ridurre a un minimo la quantità di cloroformio che si fa agire, deviando anche dopo pochi secondi la corrente dell'ossigeno, mantenuta sempre costante, dalla bottiglia contenente il cloroformio, ovvero facendovela passare per il tempo che si vuole. Il far agire il cloroformio in forma di vapore direttamente sul preparato tenuto all'asciutto, è un procedimento brutale, che non può essere adottato per i muscoli degli animali omeotermi.

L'influenza del cloroformio si esercita sia sul tono sia sull'altezza delle contrazioni del preparato diaframmatico. [A proposito dell'uno e dell'altro effetto, ved. anche i lavori di E. Rossi ([33]) e di Fröhlich ([35])].

Osserviamo i tracciati della fig. 44. L'esperimento fu fatto sopra un ottimo preparato frenico-diaframmatico di cane. Le contrazioni del tracciato I sono provocate da stimoli (2 acc., DR = 130 mm.) unici, applicati al nervo (tenuto fuori dal liquido di Ringer, mentre il muscolo era tutto immerso) con la frequenza di circa 46 al 1'. L'eccitabilità del preparato (a giudicare dalle variazioni periodiche dell'altezza delle contrazioni) presenta, sotto l'influenza di piccolissime dosi di cloroformio, singolari oscillazioni. (I momenti in cui il cloroformio è fatto agire sono indicati con frecce sulla figura).

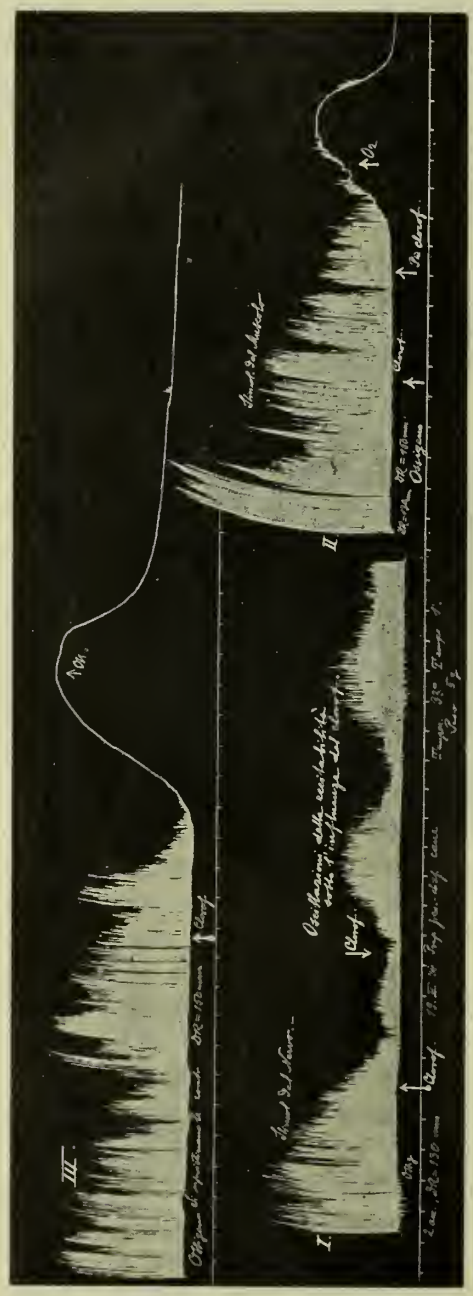


Fig. 44 (Riduz. fotografica).

Nel tracciato II si stimola direttamente il muscolo. Il cloroformio, fatto agire in dose maggiore, a un certo momento provoca una tipica contrattura, che poi si risolve dopo aver fatto cessare il passaggio di vapori di cloroformio. Dopo un certo tempo, le contrazioni ritmiche, già scomparse, riappariscono, e, come risulta dal tracciato III, sono vigorose come prima. In altre parole, il muscolo si è completamente restaurato dagli effetti del cloroformio.

Fatto agire questo di nuovo, e questa volta in dose più forte, di nuovo si ha una forte contrattura, la quale incomincia anch'essa a risolversi, poco dopo che si è fatto cessare l'arrivo di cloroformio nella camera-termostato.

È evidente, dunque, che l'azione del cloroformio, applicato in dose non eccessivamente grande, consiste nel determinare una depressione progressiva e poi abolizione della contrattilità rapida in risposta agli stimoli ritmici, e una contrattura o accorciamento tonico più o meno forte. Ma l'uno e l'altro effetto sono reversibili; se si arresta a tempo l'azione del cloroformio, il muscolo torna press'a poco nelle condizioni in cui si trovava prima. Se poi le stimolazioni ritmiche sono fatte a intervalli molto lunghi, in guisa da evitare ogni fenomeno di fatica, esiste un periodo iniziale dell'azione del

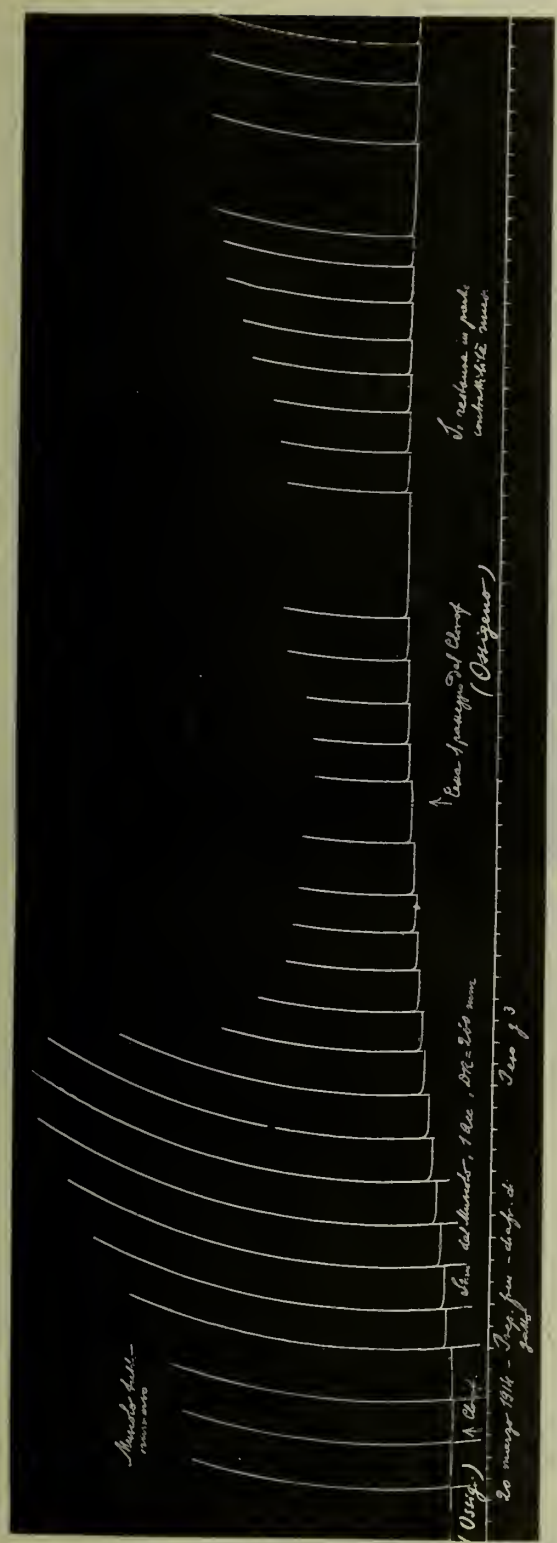


Fig. 45 (Riduz. fotografica).

cloroformio, applicato in dose piccola, durante il quale l'altezza delle contrazioni provocate aumenta visibilmente, come dimostra il tracciato della fig. 45.

Si trattava d'un preparato diaframmatico di gatto. Poco dopo l'inizio della azione del cloroformio, le contrazioni aumentarono di altezza, mentre si veniva gradatamente manifestando un lieve accorciamento tonico del muscolo. Ma dopo pochi minuti (il tempo nel tracciato è segnato in 1'), le contrazioni incominciarono a diminuire d'altezza, e notevolmente. L'aumento fu dunque di brevissima durata. Visto che la depressione della contrattilità continuava, a un certo punto sospesi il passaggio dei vapori di cloroformio. Mano mano, le contrazioni tornarono ad aumentare di altezza, sebbene l'accorciamento tonico perdurasse. Col tempo, il muscolo avrebbe probabilmente riacquistato l'intera capacità funzionale primitiva.

Il tracciato della fig. 46, finalmente, dimostra come le dosi eccessive o di clorformio provochino nel preparato diaframmatico un accorcimento il quale, se pur da principio ha i caratteri della contrattura, da ultimo certamente è vero accorciamento in rigidità. Questo non si risolve più, non ostante che cessi l'azione del cloroformio. Infatti, nell'esperimento di cui parlo, qualche ora più tardi del momento corrispondente alla curva (*a*), il muscolo, non solo non si allungò, ma anzi continuò ad accorciarsi.

L'accorciamento tonico iniziale perfettamente reversibile; l'aumento dell'altezza delle contrazioni rapide provocate durante un certo, ma sempre breve, periodo iniziale dell'azione del veleno; l'accorciamento terminale in rigidità prodotto dalle dosi troppo forti di esso; la possibile distinzione dell'accorciamento tonico iniziale dal terminale, ossia della contrattura dalla rigidità: sono tutti fenomeni che abbiamo già incontrati altre volte, in seguito all'azione di altre sostanze.

Questo è un fatto che mi sembra della massima importanza, e che deve essere tenuto in gran conto da chi tenti di dare una soddisfacente spiegazione del tutto insieme dei fenomeni descritti: il fatto, cioè, che sostanze di natura chimica differentissima — acidi e basi, alcaloidi e glicosidi, cloroformio ecc. — sono capaci di

Fig. 46 (Riduz. fotografica).

produrre effetti generali analoghi. Questo fatto mi pare che si possa spiegare solo ammettendo una certa comunanza nell'azione delle varie sostanze: e forse non solo per quanto riguarda il luogo dove questa azione si esercita, ma anche per quanto concerne il modo con cui essa in ultima istanza si svolge.

V. — *Considerazioni generali circa l'azione dei detti veleni, e particolarmente della veratrina e della nicotina.*

Io ho già prima d'ora eseguito numerose ricerche circa la azione che diversi veleni esercitano sui muscoli striati.

Il mio lavoro del 1901 ([13]) contiene esperimenti riguardanti l'azione della veratrina, della elleborina, della digitalina, della muscarina e atropina, della caffeina e della nicotina ecc., sui muscoli striati di *Rana esculenta* e di *Bufo viridis* e *vulgaris*. In quegli esperimenti dimostrai:

1) che i muscoli striati si accorciano tonicameute (contrattura iniziale) sotto l'influenza stimolante della veratrina e della nicotina (prima di Langley);

2) che le contrazioni provocate nel muscolo durante lo stato di accorciamento tonico iniziale con stimoli unici di corrente indotta, possono raggiungere altezze superiori a quelle delle contrazioni del muscolo normale, altezze che si avvicinano a quella della contrazione tetanica;

3) che l'accorciamento terminale, rilevabile nei miogrammi di muscoli veratrinizzati, può essere osservato in muscoli normali (specialmente rossi, come quelli del *Bufo*), e può essere provocato anche mediante la digitalina e altri glicosidi.

Tutti questi fatti sono stati ora confermati nel preparato diaframmatico.

In seguito, nell'altro mio lavoro *Sulla genesi del tetano muscolare* ([20]), dimostrai che nel muscolo leggermente veratrinizzato il tetano completo può essere provocato, a parità delle altre condizioni, con un numero di stimoli, nella unità di tempo, minore di quello che occorre per lo stesso muscolo non veratrinizzato; mentre il muscolo sottoposto all'azione dell'atropina esige, per compiere un tetano completo, un numero di stimoli maggiore.

Da queste osservazioni trassi argomento a sostegno della mia teoria, che il sarcoplasma, debitamente eccitato, con la sua contrazione tonica offre quel sostegno interno che è necessario perchè avvenga la fusione e la sovrapposizione delle singole contrazioni componenti la contrazione tetanica.

Finalmente, con le ricerche pubblicate nel 1906 ([12]), mostrai come la veratrina sia capace di provocare nei muscoli striati, oltre all'accorciamento tonico, cospicue contrazioni ritmiche o rapide, che in certi casi farebbero scambiare un tracciato di gastrocnemio di rospo, trattato con veratrina, con quello di un organo muscolare liscio: per es., di un esofago di pulcino. Anche questi fatti sono rimasti pienamente confermati dalle presenti ricerche sul preparato diaframmatico.

Circa il modo d'agire dei veleni, Langley ha sostenuto in questi ultimi anni, con una serie di lavori ([14], [15], [21], [22], [23]) riguardanti l'azione della nicotina, che questa agisce particolarmente sopra sostanze ricettive, situate nella regione neurale e nelle regioni non neurali dei muscoli. La regione neurale sarebbe, secondo lui, molto più eccitabile delle altre, mediante veleni; e solo quando la nicotina agisce su essa, il muscolo compie contrazioni rapide ritmiche, mentre l'accorciamento durevole si ottiene sempre, dovunque agisca la nicotina. In generale, i varî muscoli ed i diversi animali si comportano diversamente a riguardo della nicotina. Siccome questo veleno produce gli stessi effetti sul muscolo enervato per taglio dei nervi ([22]), l'Autore afferma che l'azione della nicotina si esercita direttamente sopra la sostanza muscolare, non sulle terminazioni nervee, nè sopra alcuna struttura (placca motrice) situata fra queste terminazioni e la sostanza muscolare, che non esiste nei muscoli di rana. Secondo Langley, la molecola contrattile (?) della fibra muscolare ha un certo numero di radicali ricettivi (o catene laterali), con i quali la nicotina si combina: la combinazione con alcuni di essi produce l'accorciamento durevole; la combinazione con altri (che si troverebbero, dunque, solo nella regione neurale) produrrebbe le scosse fibrillari. Il curaro inibisce l'azione della nicotina tanto nei muscoli enervati quanto in quelli normali ([14]).

I fatti ora rammentati, ed altri che per brevità tralascio, valgono approssimativamente anche per l'azione della veratrina, usata a dosi convenienti; e quindi, mentre

in parte confermano le mie osservazioni del 1901, si accordano perfettamente con le mie recenti, fatte sul preparato diaframmatico. Quello che c'è di principalmente nuovo nelle osservazioni del Langley, nei riguardi dell'azione della nicotina (e dei sali di potassio ecc.), è la distinzione di una regione neurale dalle regioni non neurali del muscolo, insieme col fatto che la prima reagisce a dosi minime di nicotina, le quali sono inefficaci sulle regioni non neurali.

Per quanto riguarda il meccanismo d'azione della nicotina, che cioè esso consista in una combinazione chimica del veleno con la sostanza muscolare, io espressi un'idea simile circa dieci anni prima di Langley. Infatti, nel 1897 ([24]), a proposito dell'azione degli alcaloidi in generale sugli organi muscolari lisci (esofago di rospo), io ammisi che « essi contraggono delle combinazioni chimiche con alcuni costituenti (proteici) del protoplasma » (pag. 53); e più oltre (pag. 55) scrissi: « Abbiamo detto, e meglio vedremo nei singoli casi, che molto probabilmente gli alcaloidi contraggono combinazioni chimiche forse coi costituenti proteici del protoplasma (muscolare) ».

Langley dice ([21]) che la nicotina fino alla concentrazione di circa 0,1 %, produce contrazione del sartorio confinata alla regione neurale, mentre la soluzione 1 % di nicotina provoca contrazione tanto nella regione neurale quanto nella regione non neurale. Le due contrazioni, dice l'autore « are readily shown by the graphic method » (pag. 187). Queste due contrazioni, di cui parla Langley, non corrispondono perfettamente ai due accorciamenti che nel preparato diaframmatico provoca la veratrina, come sopra ho detto. Infatti le due contrazioni di Langley sono risposte del muscolo a due concentrazioni diverse di nicotina, mentre gli accorciamenti del preparato diaframmatico si verificano successivamente sotto l'azione di una stessa dose di alcaloide aggiunto al liquido di Ringer.

Ora, nell'ultimo suo lavoro, Langley distingue di nuovo ([23]) l'accorciamento prodotto dalle piccole dosi di nicotina, da quello che producono le dosi maggiori. Egli così si esprime (pag. 194): « The primary change produced by nicotine, which causes shortening of the muscle I speak of as the *stimulation change*, and the shortened state of the muscle after nicotine has acted, I speak of as *contracture* ». Più oltre aggiunge (pag. 195): « ... the whole of the shortening of muscle-*contraction* and -*rigor* caused by nicotine might be attributed to a localised chemical change in the muscle substance produced by nicotine acting directly upon it ».

Egli ha anche osservato quanto segue: « After a low concentration of nicotine has acted for a certain time, a large increase of concentration — it may be a hundred fold — does not cause contraction ».

Ebbene, tutto quanto Langley dice della nicotina, corrisponde a quanto io già scrissi nel 1897, a proposito dell'azione degli alcaloidi, in generale, sull'esofago del rospo.

A pag. 77 del mio lavoro ([24]) si legge: « Non possiamo fare a meno di ammettere che i varii veleni hanno speciali affinità per i diversi costituenti del protoplasma (leggi: *radicali ricettivi* di Langley); e che questo fatto si accentua tanto più, quanto più è complessa la struttura morfologica e chimica del corpo cellulare, quanto maggiore è il suo stato di differenziamento » ..... « Abbiamo visto e vedremo che un'alcaloide abolisce l'effetto di un altro alcaloide che ha agito prima, probabilmente sosti-

tuendosi ad esso, e formando, con lo stesso costituente della sostanza vivente, un composto diverso »... « Queste combinazioni di alcuni costituenti del citoplasma con i così detti veleni sono da considerarsi come dei corpi nuovi, dotati di proprietà diverse da quelle della sostanza vivente originale; e queste nuove proprietà sono l'espressione, evidentemente, di nuove modalità del suo metabolismo ». A proposito particolarmente dell'azione della veratrina, scrivevo: « Riassumendo, la veratrina provoca insieme, prima un aumento, poi un lungo abbassamento, e finalmente ancora un aumento terminale del tono » (pag. 78). Precisamente, come nel preparato diaframmatico!

La prima reazione dell'organo alla azione del veleno io distinsi col nome di « contrazione iniziale ». Questa corrisponde al primo aumento del tono provocato dalla veratrina, e alla « contraction » di Langley (che egli distingue dalla « contracture »). Ecco ciò che io scrissi a proposito di tale « contrazione iniziale »: « Essa è seguìta sempre da una distensione del muscolo, massima quando si tratta di un veleno espansorio, minima quando si tratta di un veleno contrattorio. Essa è rapida; segue subito al primo contatto della soluzione tossica..... ». « Quando il muscolo si trova già sotto l'influenza del veleno, da qualche tempo, l'aggiunta di una nuova quantità di soluzione tossica, di regola, più non provoca una nuova contrazione iniziale. Se il muscolo è stato però ripetutamente irrigato con un liquido indifferente (soluzione di Na Cl), l'aggiunta del veleno può in alcuni casi provocare una nuova *contrazione iniziale*, che però non è mai così forte come la prima » (pag. 91 del mio lavoro sopra citato).

Io ho dimostrato, dunque, già nel 1897 la reversibilità della azione degli alcaloidi, e anche il fatto che una seconda dose di alcaloide è poco o punto efficace sopra un organo che è stato esposto per qualche tempo all'azione di esso.

Langley chiama la contrazione che provoca la nicotina « stimulation change ». Ora, ecco ciò che io scrissi nel 1897 (pag. 92): « in sostanza, noi ammettiamo che gli effetti duraturi, osservati e descritti nelle pagine precedenti, dell'azione dei varî veleni, sono l'espressione del particolar modo di funzionare di quella combinazione chimica che il plotoplasma o qualche suo costituente forma con le molecole del veleno..... Durante questa funzione, il veleno più non agisce come stimolo, ma come parte integrante della sostanza muscolare. *Come stimolo può ammettersi che esso e agisca solo nel primo momento in cui viene a contatto delle cellule muscolari; l'effetto di questo stimolo è la contrazione iniziale.....* ». E più oltre, chiarivo meglio il mio pensiero, scrivendo: « il fatto che il protoplasma vivente reagisce a qualsiasi veleno (naturalmente, io parlavo di quelli da me allora sperimentati sull'esofago del rospo), sempre nello stesso modo, qualunque sia l'effetto postumo di esso, c'induce a credere che il fenomeno costante della *contrazione iniziale* sia dovuto al cangiamento della costituzione chimica del citoplasma contrattile: in altre parole, alla stessa reazione chimica per cui si forma la combinazione più volte ricordata..... ».

Come risulta dalle citazioni fatte, l'odierna ipotesi di Langley, della esistenza di varie sostanze o catene laterali ricettive nella fibra muscolare, e della combinazione di esse con l'alcaloide (nicotina), per cui si ha la prima reazione contrattoria, fu già dunque formulata da me, con altre parole, fin dal 1897. Similmente, io già

distinsi i due periedi, o le due fasi, che seguono all'azione del veleno: la prima fase, che ha tutto l'aspetto di reazione a uno stimolo (chimico); e la seconda fase che, per usare le parole di Langley, nel caso della nicotina (e io posso aggiungere, della veratrina), corrisponde a un « altered physical state » del muscolo.

Rimangono ora due punti da discutere.

Il primo è: dove sono localizzati gli effetti meccanici dell'azione della veratrina, della nicotina ecc.? Langley ha accennato due volte, nella serie delle pubblicazioni sopra citate, alla mia teoria del sarcoplasma. La prima volta, nel lavoro del 1909 ([14]), dove a pag. 236, in nota, dice: « The question whether (on the lines of Bottazzi's theory) the slowly contracting substance is the sarcoplasm will not be dealt with in this paper ». E la seconda volta, nell'ultimo lavoro ([23]), dove a pag. 166 scrive: « Nor I have obtained satisfactory evidence as to whether nicotine acts on the fibrillae or (as on Bottazzi's theory) on the sarcoplasm ». Ma io credo che la prudenza del Langley sia eccessiva.

Noi constatiamo tre diversi effetti meccanici, durante l'azione della veratrina e della nicotina: primo, scosse muscolari rapide; secondo, una contrattura o accorciamento tonico iniziale (« contraction » di Langley), che segue subito all'azione dell'alcaloide, ma presto anche si risolve; terzo, un accorciamento terminale, che si continua indistintamente con l'accorciamento da rigidità cadaverica (« contracture » di Langley), se pure non è, in molti casi, questo medesimo fin dal principio.

Credo che si possa con sufficiente sicurezza affermare, che le scosse fibrillari sono eseguite dalle miofibrille; ed è molto verosimile che i due accorciamenti, iniziale e terminale, siano dovuti anche al sarcoplasma. Ed è probabile inoltre, conforme agli esperimenti di Langley, che l'accorciamento tonico (« contraction » di Langley) sia dovuto al sarcoplasma della regione neurale, chimicamente differenziato in guisa da essere più ricettivo per dosi anche piccole di veleno; mentre l'accorciamento terminale (o « contracture » di Langley) sarebbe dovuto al sarcoplasma delle regioni non neurali del muscolo, più torpido nella sua reazione (e forse anche al materiale fibrillare).

Le contrazioni fibrillari che, data la loro piccolezza, potrebbero forse essere eseguite dalle fibrille più superficiali, situate immediatamente sotto la regione neurale, si verificano per lo più nelle stesse condizioni in cui ha luogo la contrattura iniziale, con la quale per lo più coincidono, sebbene talora appariscano indipendentemente da essa, come la contrattura può anche presentarsi non accompagnata da contrazioni fibrillari. Certo è che queste non si osservano mai durante l'accorciamento terminale; il che vuol dire che, quando questo avviene, le strutture della regione neurale, le quali reagendo al veleno producono la contrattura e le contrazioni fibrillari, sono già messe fuori di funzione.

Il secondo punto da discutere sarebbe questo: come si compiono i tre effetti meccanici sopra detti? Questo problema, però, non potrebbe essere utilmente discusso senza prima trattare delle teorie della contrazione muscolare, che mi propongo di esporre criticamente in un lavoro a parte. Ritenendo tuttavia tali teorie come note, io mi limiterò qui a dire che non mi sembra giustificata l'opinione espressa dal Langley a questo proposito nel suo ultimo lavoro: che cioè gli effetti meccanici non

siano dovuti al fatto che, in seguito all'azione della nicotina, si formino nella fibra muscolare quelle sostanze (per es. acido lattico), che sono ora da alcuni ritenute come intimamente connesse col processo contrattorio anche nel muscolo normale.

Comunque sia, il dire (pag. 195 dell'ultimo lavoro): « the whole of the shortening of muscle-*contraction* and -*rigor* caused by nicotine might be attributed to a localised chemical change in the muscle substance produced by nicotine acting directly upon it », non costituisce un progresso rispetto a quanto scrissi io, in modo egualmente vago e indeterminato, nel mio lavoro del 1897 (pag. 93).

Oggi si potrebbe, per esempio, ammettere che la nicotina, la veratrina e altre sostanze contratturanti agiscano nel seguente modo: Esse, combinandosi con la sostanza vivente delle fibre muscolari (con alcuni radicali ricettori di essa), probabilmente provocano in queste la formazione di acido lattico, che a sua volta determina, in una maniera che poi costituisce la base dell'una o dell'altra teoria della contrazione, il processo contrattorio. Gli esperimenti e gli argomenti che adduce Langley per negare che la nicotina agisca mediante l'acido lattico o altri prodotti metabolici, di cui provocherebbe la formazione, non mi sembrano persuasivi. E non debbono sembrare tali nemmeno a lui, perchè egli in fine conclude: « On both points further investigation is required ». Se l'accorciamento terminale prodotto dal cloroformio, dalla veratrina, dalla nicotina etc., fosse causato dall'acido lattico formatosi e accumulatosi in quantità eccessiva, esso rappresenterebbe veramente un *rigor mortis*, una rigidità da acidi (« Säurestarre » dei tedeschi); e sarebbe dovuto, secondo una teoria ora da varî autori accettata, a imbibizione delle strutture contrattili (ved. il capitolo seguente).

L'azione curarica, che esercitano la veratrina ([25]) e la nicotina, potrebbe consistere in un'alterazione irreversibile del sostrato morfologico delle giunzioni neuro-muscolari, probabilmente di sostanze assai labili interposte fra le terminazioni nervee e le fibre muscolari (anche se manca una vera e propria placca motrice): alterazione tale, che il perturbamento nerveo propagantesi fino al muscolo, giunto qui, non può più indurvi quel processo eccitatorio locale, che poi è causa della contrazione. La reazione di combinazione chimica della nicotina o della veratrina con le sostanze della regione neurale, cioè delle giunzioni neuro-muscolari, provocherebbe, mentre si svolge, la contrattura iniziale e le scosse fibrillari, e avrebbe per effetto ultimo la cessazione della conduttività neuro-muscolare. Ma la detta alterazione irreversibile avviene anche per altre cause, e indipendentemente dall'azione di qualsiasi veleno, ossia spontaneamente, specie nei preparati neuro-muscolari di animali omeotermi, come abbiamo altrove detto; e mentre avviene, si verificano gli stessi effetti: contrattura, che poi si risolve, e scosse fibrillari.

Langley suppone che il tono riflesso normale dei muscoli possa spiegarsi con una contrattura confinata alle regioni neurali dei muscoli. Io non potrei che accettare questo modo di vedere, aggiungendo che, essendo essa di origine sarcoplasmica, può benissimo durare a lungo, senza produrre fatica.

Un fenomeno degno di nota, osservato da me, e sul quale ho già insistito, è che queste contratture iniziali possono spesso essere temporaneamente inibite mediante stimolazioni nervee intercorrenti.

BIBLIOGRAFIA

(1) J. Loeb, *Ueber die Aehnlichkeit der Flüssigkeitsresorption in Muskeln und Seifen.* Pflüger's Arch., LXXV, pag. 303, a. 1899. — Idem, *Ueber Ionen welche rhythmische Zuckungen der Skelettmuskeln hervorrufen.* Festschr. f. Prof. A. Fick, pag. 101. Braunschweig, 1899.

(2) G. Buglia, *Variations de poids du muscle plongé à differentes températures dans de solutions de chlorure de sodium pures ou additionnées de* HCl *ou de* NaOH etc. Arch. intern. de Physiol., VIII, pag. 273, a. 1909.

(3) A. Herlitzka, *Sui liquidi atti a conservare la funzione dei tessuti sopravviventi.*

	Nota I.	Arch. di Fisiol.,	VI,	pag.	369,	a. 1909.
	» II.	Ibidem,	VIII,	»	249,	a. 1910.
(G. Viale)	» III.	Ibidem,	»	»	536,	a. 1910.
	» IV.	Ibidem,	»	»	570,	a. 1910.
	» V.	Ibidem,	X,	»	221,	a. 1912.
	» VI.	Ibidem,	»	»	261,	a. 1912.

(4) S. P. L. Sörensen, *Enzymstudien.* II. *Ueber die Messung und die Bedeutung der Wesserstoffionen-Konzentration bei enzymatischen Prozessen.* Bioch. Zeit., XXI, pag. 130, a. 1909.

(5) G. F. Göthlin, *Ueber die chemischen Bedingungen für die Activität des überlebenden Froschherzens.* Skandin. Arch. f. Physiol., XXII, pag. 1, a. 1902.

(6) E. Hédon et C. Fleig, *Action des sérums artificiels et du serum sanguin sur le fonctionnement des organes isolés des mammifères.* Arch. intern. de Physiol., III, pag. 96, a. 1905.

(7) H. Friedenthal, *Reaktionsbestimmungen im natürlichen Serum, und über Herstellung einer zum Ersatz des natürlichen Serums geeigneten Salzlösung.* Arch. f. (Anat. u.) Physiol., pag. 550, a. 1903.

(8) E. Laqueur und Fr. Verzár, *Ueber die spezifische Wirkung der Kohlensäure auf das Atemzentrum.* Pflüger's Arch., CXLIII, pag. 395, a. 1911.

(9) Th. Birnbacher, *Ueber das Verhalten des Muskels im Muskelpresssaft.* Pflüger's Arch., CLIV, pag. 401, a 1913.

(10) J. Loeb, *Physiologische Untersuchungen über Ionenwirkungen.* I. *Versuche am Muskel.* Pflüger's Arch., LXIX, pag. 1, a. 1897. — Idem., II. Ibidem, LXXI, pag. 457, a. 1898.

(11) G. Quagliariello, *Beiträge zur Muskelphysiologie. — Wirkung des Veratrins auf die quergestreiften Muskeln von Warmblütern.* Zeit. f. Biol., LIX, pag. 441, a. 1913.

(12) Fil. Bottazzi, *Recherches sur les mouvements automatiques de divers muscles striés.* Journ. de Physiol. et de Pathologie génér., pag. 193, a. 1906.

(13) Fil. Bottazzi, *Ueber die Wirkung des Veratrins* etc. Arch. f. (Anat. und) Physiol., pag. 413, a. 1901.

(14) J. N. Langley, *On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of « receptive » substances.* Parte IV. *The effect of curari and of some other substances on the nicotine response of the sartorius and gastrocnemius muscle of the frog.* Journ. of Physiol., XXXIX, pag. 235, a 1909.

(15) J. N. Langley, *On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of « receptive » substances.* Parte I. Journ. of Physiol., XXXVI, pag. 347, a. 1907.

(16) J. Ranke, *Tetanus.* Leipzig, 1865.

(17) W. Burridge, *Observations on the rôle of potassium salts in frog's muscle.* Journ. of Physiol., XLII, pag. 359, a. 1911.

(18) G. Kopyloff, *Versuche über Säurekontrakturen an quergestreiften Muskeln.* Pflüger's Arch., CLIII, pag. 219, a. 1913.

(19) M. von Frey, *Allgemeine Physiologie der quergestreiften Muskeln.* In: W. Nagel's Handb. d. Physiol. d. Menschen, IV, pp. 452-453. Braunschweig, 1905. — Ved. anche: Festschrift C. Ludwig gew., pag. 55, Leipzig, 1887, e Arch. f. Physiol., pag. 195, a. 1887.

(20) Fil. Bottazzi, *Ricerche sulla genesi del tetano muscolare.* Atti della Soc. lig. di scienze natur., XV, a. 1904. — Vedi anche: Arch. ital. de Biol., XLII, fasc. 2°, pag. 169, a. 1904.

(21) J. N. Langley, *On the contraction muscle, chiefly in relation to the presence of « receptive » substances.* Parte II. Journ. of Physiol., XXXVII, pag. 165, a. 1908.

(22) J. N. Langley, *Idem.* Parte III. *The reaction of frogs muscle to nicotine after denervation.* Ibidem, pag. 285.

(23) J. N. Langley *The protracted contraction of muscle caused by nicotine and other substances chiefly in relation to the rectus abdominis muscle of the frog.* Ibidem, XLVII, pag. 159, a. 1913.

(24) Fil. Bottazzi, *Contributi alla fisiologia del tessuto di cellule muscolari.* Parte I, II e III. Firenze, 1897.

(25) L. et M. Lapicque, *Curarisation par la vératrine; antagonismes dans la curarisation.* C. R. Soc. d. Biol., LXXII, pag. 283, a. 1912.

(26) D. Dale and G. R. Mines, *The action of acids on skeletal muscles.* Journ. of Physiol., XLII, pag. XXIX, a. 1911.

(26) C. Lhotàk von Lhota, *Untersuchungen über die Veränderungen der Muskelfunction in einer Kohlendioxydatmosphäre.* Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1902. Suppl., pag. 45.

(27) A. D. Waller and S. C. M. Sowton. *Action of carbon dioxide on voluntary and cardiac muscle.* Journ. of Physiol., pag. XVI, a. 1896.

(28) G. Lopriore, *Ueber die Einwirkung der Kohlensäure auf das Protoplasma der lebenden Pflanzenzellen.* Jahrb. f. wiss. Botan., XXVIII, pag. 531, a. 1895.

(29) Fil. Bottazzi, *Nuove ricerche sui muscoli lisci.* Zeit. f. allg. Physiol., IX, pag. 368, a. 1909.

(30) E. Jerusalem and E. H Starling, *On the significance of carbon dioxide for the heart beat.* Journ. of Physiol., XL, pag. 279, a. 1910.

(31) Rütz, *Ueber die Bedeutung der Milchsäure bei der Muskelarbeit.* Diss., Berlin, 1912.

(32) M. Philippson et G. Hannevart, *L'action des acides et des alcalis sur la contraction des muscles.* Bull. de la Soc Roy d. Sc. méd. et nat. de Bruxelles, n. 8, oct. 1912. (Estratto).

(33) E. Rossi, *Ueber die Beziehungen der Muskelstarre zur Eiweissgerinnung und zur chemischen Muskelreizung.* I. *Chloroform-Aether- und Ammoniakstarre.* Zeit. f. Biol., LIV, pag 299, a. 1909.

(34) E. Rossi, *Idem.* II. *Salzstarre.* Zeit. f. Biol., LVI, pag. 253, a. 1911.

(35) Fr. W. Fröhlich, *Ueber die scheinbare Steigerung der Leistungsfähigkeit des quergestreiften Muskels im Beginn der Ermüdung (« Muskeltreppe »), der Kohlensäurewirkung und der Wirkung anderer Narkotika (Aether, Alkohol).* Zeit f. allgem. Physiol., V, pag. 288, a. 1905.

(36) O. von Fürth und C. Schwarz, *Ueber die Steigerung der Leistungsfähigkeit des Warmblütermuskels durch gerinnungsbefördernde Muskelgifte.* Pflüger's Arch., CXXIX, pag. 525, a. 1909.

(37) E. B. Meigs, *The application of Mc Dougall's theory of contraction to smooth muscle.* Amer. Journ. of Physiol., XXII, pag. 477, a. 1908. — Idem, *The effects of distilled water and of various solutions on the weight and length of striated muscle.* Ibidem, XXVI, pag. 191, a. 1910. — Idem, *The structure of smooth muscle and its responses to distilled water and hypertonic salt solutions: au answer to C. Mc Gill.* Quart. Journ. of exper. Physiol., V, pag. 55, a. 1912.

(38) C. Mc. Gill, *Studies on smooth muscle.* Quart. Journ. of exper. Physiol., III, pag. 241, a. 1910.

(39) I. Demoor et M. Philippson, *Influence de la pression osmotique sur la viscosité du muscle et sur l'allure de sa contraction.* Trav. du Labor. de Physiol. d. Inst. Solvay, IX, pp. 13-38, a. 1908. — Idem, Idem, *Influence de la pression osmotique sur l'allure de la contraction musculaire.* Ibidem, fasc. 3°, pp. 1-13, a. 1909.

CAPO VI.

La rigidità cadaverica (rigor mortis), e le altre forme di rigidità muscolare.

In molti degli esperimenti riferiti nel capitolo precedente, il preparato diaframmatico, sottoposto a condizioni fisiche e all'azione di sostanze chimiche diverse, dopo avere presentato svariati fenomeni, passa in uno stato di accorciamento, che possiam dire terminale, in quanto che esso è seguìto da cessazione della eccitabilità muscolare, e in alcuni casi coincide visibilmente con una profonda e progressiva depressione di essa. Questi accorciamenti terminali non sono, dunque, altro che fenomeni di *rigor mortis*, di rigidità, che distinguiamo con nomi diversi, secondo l'agente fisico o chimico che li determina: rigidità da acidi o da alcali, da calore, da acqua etc. La rigidità spontanea, che è poi la comune rigidità cadaverica, vedremo che è ritenuta come affine alla rigidità da acidi. Se anche altre forme di rigidità, come per es. quelle prodotte da alcuni alcaloidi (veratrina, nicotina etc.) e glicosidi (digitalina etc.), possa essere considerata della stessa natura, vedremo appresso. Anche delle altre forme di rigidità, che certamente differiscono dalla rigidità da acidi, come quelle che sono causate dall'acqua, da alcali etc., discuteremo a suo tempo la genesi. Prima voglio, però, riassumere brevemente le nozioni che fino ad oggi possediamo circa il determinismo dei fenomeni di rigidità in generale, e le relative ipotesi che a questo riguardo sono state formulate da diversi autori.

I. *Notizie storiche e bibliografiche sulla rigidità muscolare, in generale.*

Comunemente si attribuisce a Kühne ([1,2]) la teoria, che la rigidità cadaverica (*rigor mortis*) sia effetto di coagulazione spontanea di alcune proteine del plasma muscolare, dopo la morte ». Non v'ha dubbio — egli dice — che i coaguli che si formano (nella coagulazione del succo muscolare ottenuto col suo metodo) sono identici alla sostanza che si separa nel muscolo durante la rigidità cadaverica »... E più oltre aggiunge (loc. cit., pag. 23): « Una parte dei processi di coagulazione, che nel muscolo si svolgono dopo la morte, si spiega facilmente con la formazione di acidi liberi ecc. ». Dunque, la rigidità cadaverica sarebbe manifestazione della coagulazione delle proteine muscolari operata dagli acidi che si formano nei muscoli, dopo la morte. Anche la rigidità, onde sono invasi i muscoli immersi in acqua distillata, si spiegherebbe in modo analogo, perchè l'acqua, come gli acidi, fa precipitare le proteine del succo muscolare.

Ma già prima di Kühne, Giovanni Müller e Brücke avevano, il primo solamente accennato a quella teoria, mentre il secondo vi s'era tanto accostato, che lo stesso

Kühne, nel suo lavoro del 1859, la chiama la « Gerinnungstheorie » di Brücke ([4]). Giovanni Müller ([3]) ricorda l'opinione di Orfila, di Béclard e di Treviranus, secondo la quale la rigidità cadaverica deriverebbe dalla coagulazione del sangue; poi aggiunge che anche Sommer riconosceva l'analogia tra i due fenomeni (la coagulazione del sangue e la rigidità cadaverica), costituendo essi la morte del sangue e dei muscoli. Nessuno di questi autori accenna, nemmeno lontanamente, alla coagulazione del contenuto delle fibre muscolari; e l'analogia dianzi detta fu loro suggerita unicamente dal cambiamento di consistenza del sangue, da una parte, e dei muscoli, dall'altra. Infatti, Müller accenna anche all'irrigidirsi dell'adipe, per raffreddamento e solidificazione dei grassi dopo la morte.

Nemmeno Brücke, del resto, aveva colto interamente nel segno, perchè egli attribuì la rigidità alla coagulazione della fibrina, che giungerebbe alla sostanza muscolare per nutrirla, non alla sostanza muscolare stessa.

Ora, sta appunto in ciò il merito di Kühne, di aver distinto la « coagulazione » del plasma muscolare da quella del plasma sanguigno, e avere con la prima spiegato la rigidità cadaverica. La « teoria della coagulazione », dunque, appartiene indiscutibilmente a Kühne. A Brücke si può riconoscere il merito di avere localizzato nei muscoli il fenomeno, che gli altri ponevano addirittura fuori di essi, cioè nei vasi sanguigni; ma quanto alla sostanza, a spese della quale il fenomeno si svolge, egli rimase nella confusione degli altri, pensando che fosse la fibrina, penetrata nei muscoli per nutrirli.

Degne di nota sono anche le parole di C. Ludwig ([5]) a questo riguardo, con le quali egli prima attribuisce chiaramente al Brücke la teoria della coagulazione, e più tardi (nella seconda edizione del suo trattato) incomincia a dubitare che la sostanza che coagula sia fibrina, e tende ad ammettere che sia invece una sostanza proteica del muscolo (*).

In seguito, tutti i fisiologi aderirono alla suddetta teoria ([6]), e diventò per tutti un dogma che la rigidità cadaverica fosse dovuta a coagulazione o precipitazione della miosina operata dagli acidi che nel muscolo si sviluppano dopo la morte.

Per quanto riguarda la risoluzione spontanea della rigidità, per molto tempo si ammise che essa fosse effetto dei processi di putrefazione che invadono i muscoli, prima o poi, dopo la morte. Durante questi processi, si disse, si formano sostanze alcaline, che neutralizzano gli acidi, e così la miosina può tornare a sciogliersi. Ma

(*) Nella prima edizione è detto: « Weiterhin vermuthet Brücke, dass im todtenstarren Muskel der Faserstoff oder eine ihm ähnliche gerinnbare Substanz fest geworden, welche im leistungsfähigen Muskel flüssig zwischen den Bestandtheilen des festen Inhaltes der Muskelröhren eingelagert sei ».

Nella seconda edizione (1858, pag. 472), Ludwig è più chiaro ed esprime un'opinione personale: « Die augenfälligste Unsetzung besteht darin, dass *die im lebenden Muskel flüssigen Eiweisskörper in der Todtenstarre fest werden*, oder wie sich Brücke... ausdrückt, dass in der Todtenstarre der flüssige Muskelfaserskoff gerinne ». E che Ludwig, per il primo, abbia sospettato non trattarsi di coagulazione della fibrina del sangue, resulta dalle seguenti sue parole (la stessa pag., più sotto): « Darüber, dass die Muskelstarre auf der Gerinnung eines im Leben flüssigen und zwar eines Eiweissstoffes beruht, scheint kaum noch eine Meinungsverschiedenheit zu bestehen; um so weniger ist man aber einig über die Natur des gerinnenden Stoffes ». Poco dopo, Kühne specifica che la sostanza che coagula è un costituente proprio del muscolo, la miosina.

alcuni osservarono che la risoluzione può avvenire in muscoli tenuti al riparo dalla putrefazione.

Accenno di volo all'opinione del Danilewsky ([7]), secondo cui non si può ammettere che la miosina nella rigidità cadaverica si trasformi nella sua modificazione insolubile, perchè in tal caso sarebbe impossibile comprendere come questa, che nel formarsi subisce non lievi cangiamenti, durante la risoluzione spontanea della rigidità poi riassumerebbe, per es., non solo il calcio perduto, ma anche altri suoi aggruppamenti normali ecc.

L'anno seguente, C. Schipilloff ([8]), dopo avere constatato che l'acidità dei muscoli irrigiditi è maggiore di quella dei muscoli freschi, formulò nel seguente modo una « teoria della rigidità » : la rigidità consiste — ella disse — in una temporanea precipitazione della miosina chimicamente non alterata dal suo stato semifluido, qual'è quello in cui si trova nel plasma muscolare; questa precipitazione è causata dallo sviluppo postmortale di acido nel tessuto muscolare; la risoluzione spontanea della rigidità cadaverica in muscoli non ancora invasi da putrefazione è dovuta allo sviluppo di quantità maggiore di acido. Nel formulare questa teoria, specie in quanto si riferisce al meccanismo della risoluzione della rigidità, l'A. si basava sopra gli studii fatti insieme con Danilewsky, e da questo stesso autore, sulle proprietà della miosina. La Schipiloff fu, dunque, la prima ad affermare chiaramente che la risoluzione della rigidità dipenda da ridissoluzione della miosina, già precipitata dagli acidi che si formano nei muscoli, per opera di questi stessi acidi formantisi in eccesso.

Ma appunto per quanto riguarda tale causa della risoluzione spontanea della rigidità, la teoria della Schipiloff, abbracciata più tardi anche da Mellanby ([9]), non è sostenibile, perchè l'acido lattico, che non è un acido molto forte, non è capace, nella quantità in cui può accumularsi nel muscolo, di ridisciogliere la miosina, ammesso che questa sia stata prima precipitata. Perfino un acido forte, come il cloridrico, deve agire in concentrazione considerevole, per ridisciogliere la miosina senza alterarla, e la trasforma in sintonina solo quando agisce in eccesso e ad alta temperatura ([7]).

Analogamente, come non è sostenibile l'opinione ([10]) che la cosiddetta « coagulazione spontanea » del plasma muscolare sia dovuta all'azione di un « miosinfermento », così è da rigettarsi l'altra, che la risoluzione della rigidità cadaverica dipenda dall'azione di fermenti autolitici i quali idrolizzerebbero la miosina coagulata. Il fatto osservato da parecchi autori ([11]), che la quantità di succo che si ottiene mediante spremitura al torchio idraulico dei muscoli tritati è tanto maggiore quanto più tempo è scorso dal momento della morte, non è indizio della supposta autolisi, ma effetto di altre cause, che ho altrove ([12]) esposte e discusse.

Anche Bierfreund ([13]), che lavorò sotto la direzione di Hermann e di Langendorff, e più tardi Karpa ([14]), affermarono che la rigidità cadaverica si risolve dopo un certo tempo, indipendentemente dalla putrefazione. Da ciò Bierfreund dedusse che la rigidità cadaverica è un accorciamento transitorio del muscolo, allo stesso modo che la contrazione ordinaria. Ma già prima di lui M. Schiff ([15]) e lo stesso Hermann ([6]) avevano creduto di intravvedere un'analogia fra la rigidità cadaverica e la contrazione muscolare, affermando che l'accorciamento della rigidità possa considerarsi come una contrazione idiomuscolare *sui generis*, o come l'ultima contrazione del muscolo.

Vogliamo, infine, ricordare che, secondo Kühne (loc. cit., 1859, pag. 183), l'analogia fra la coagulazione del sangue e quella che avviene nel muscolo che si irrigidisce, si estende anche al fatto che una variazione di volume ([16]) non si verifica nè nell'uno nè nell'altro processo; e che (loc. cit.) durante la rigidità avviene solo un « debole accorciamento » del muscolo, mentre l'accorciamento che ha luogo nella rigidità da calore (Wärmestarre) è di molto maggiore.

Kühne accenna, come ho già sopra rammentato, anche alla rigidità che invade il muscolo quando lo si immerge in acqua distillata (« Wasserstarre »), e la spiega nello stesso modo che la rigidità cadaverica, che sarebbe essenzialmente una rigidità da acidi (« Säurestarre »), avendo egli osservato che il plasma muscolare coagula anche quando viene a contatto di acqua distillata. La « Wasserstarre » sarebbe, dunque, come la « Säurestarre », una « rigidità da coagulazione delle mioproteine ».

Un fenomeno intimamente legato alla rigidità cadaverica è la formazione di acidi nei muscoli *post mortem*. Avendo io però riassunto in un altro lavoro ([17]) le notizie che si posseggono a questo riguardo, credo superfluo di insistervi di nuovo qui. Ricordo, solamente, che la detta formazione di acidi è cosa certa; che si tratta principalmente di acido lattico, e anche di acido carbonico, e verosimilmente anche di fosfati acidi; che tale formazione di acidi raggiunge presto un massimo di velocità e poi rimane presso che stazionaria; che essa avviene nel muscolo sopravvivente, non nel muscolo morto o disgregato; è accelerata dalle temperature alte, dall'asfissia e dagli eccitamenti della sostanza muscolare, ed è ritardata dal freddo e dall'ossigeno; e finalmente, che la formazione dell'acido lattico nei muscoli tenuti al riparo dalle azioni batteriche non è ancòra dimostrato che sia un processo enzimatico, perchè è stato impossibile estrarre dai muscoli un fermento produttore di acido lattico dal glicosio o da altre sostanze.

Recentemente, però, è stato ottenuto da varii tessuti animali, compresi i muscoli, un fermento detto gliossalasi, che sarebbe capace di accelerare la reazione reversibile:

$$\underset{\text{metilgliossal}}{\underline{CH_3 . CO . CHO}} + H_2O \rightleftarrows \underset{\text{acido lattico}}{\underline{CH_3 . CHOH . COOH}} .$$

il metilgliossal potendo a sua volta derivare dalla alanina ([18]). Ma su ciò altre ricerche sono ancòra necessarie.

Riservandomi di esaminare più tardi le relazioni che passano fra l'acidificazione dei muscoli sopravviventi e i fenomeni di rigidità, occorre presentemente tornare a questi fenomeni.

Dubbi non tardarono ad elevarsi contro la teoria sopra esposta, che può dirsi « teoria della coagulazione ».

Folin ([19]) non crede che la rigidità cadaverica sia dovuta a coaugulazione di sostanze proteiche, per le seguenti ragioni: 1°) perchè la rigidità può incominciare prima che abbia luogo una visibile coagulazione del plasma; 2°) perchè lo avvenimento della rigidità può essere impedito, e la rigidità già iniziata può esser fatta retrocedere, semplicemente piegando o premendo un poco il muscolo fra le dita, cioè facendo su esso una specie di massaggio; 3°) perchè la rigidità può anche essere provocata raffreddando i muscoli a -15° o -20° C, ecc.

I due primi argomenti hanno certamente valore; non però il terzo.

L'esistenza di una rigidità da freddo (*rigor a frigore*, « Kältestarre ») fu affermata anche da Brücke (loc. cit.). Ma è necessario discutere se si tratti veramente d'un fenomeno di rigidità, e come potrebbe essere causato dalle temperature molto basse. Folin ha osservato che i muscoli « irrigiditi » per freddo hanno reazione neutra o debolmente alcalina (al tornasole), cioè in essi non si formano acidi; che rimangono perfettamente translucidi, e non si accorciano visibilmente. Ma se è così, come può egli parlare di rigidità?

L'A. inoltre ha osservato che da muscoli gelati, come da altri raffreddati solamente a 0° C., si ottengono estratti (con soluzione 0,7 % di Na Cl) contenenti la stessa quantità di proteina coagulabile a 40-42° C., sebbene i primi fossero irrigiditi, gli altri no. Ciò dimostra, secondo l'A., che la rigidità non dipende da coagulazione, perchè se dipendesse da coagulazione, egli aggiunge, l'estratto di muscoli irrigiditi dovrebbe contenere minor quantità di proteina coagulabile a 40-42° C. Il contenuto in proteina di estratti muscolari, però, è un criterio sul quale non ci si può fondare per fare deduzioni simili a quelle che fa l'A. E poi, ripeto, se il muscolo non si acidifica e non si accorcia, mancano i due principali criterii della rigidità.

Probabilmente, Folin chiama rigidità il semplice indurimento dei muscoli, che alle temperature di - 15° e - 20° C. dipende certamente dal congelamento dell'acqua muscolare; ma l'aumento della consistenza, dovuto semplicemente al passaggio dell'acqua dallo stato liquido al solido, non può essere scambiato con lo stato di rigidità. Comunque sia, Folin non propone alcuna spiegazione, diversa da quella classica, della rigidità cadaverica.

La questione della « rigidità da freddo » si riconnette all'altra riguardante le modificazioni chimico-fisiche che le temperature molto basse inducono nei muscoli, e particolarmente nell'acqua che essi contengono. A questo proposito, sono state fatte recentemente ricerche, i cui risultati sono molto importanti e riguardano da vicino il problema della « rigidità da freddo ». Fischer e Jensen ([20]) hanno osservato che dopo o durante la morte per congelamento si svolge nei muscoli un processo, « durch den Wasser in eine nicht näher bekannte Bindung eintritt, aus der es erst bei tieferen Temperaturen wieder frei wird ». « Diese Vermehrung der Menge des gebundenen Wassers scheint in allen Fällen einzutreten in denen der Muskel abstirbt ».

Questi fatti mi sembrano di non difficile interpretazione, modificando alquanto il significato delle riferite espressioni. Non la morte, diremo, ma l'eccitamento della sostanza muscolare, anche se causato da freddo moderato, è accompagnato da produzione di acidi, i quali esaltano il potere dei colloidi di fissare acqua allo stato di imbibizione. Nei muscoli, come in ogni altro tessuto vivente, l'acqua non si trova tutta in tale stato, ma in parte è libera. È questa acqua libera che passa allo stato di acqua d'imbibizione, sia nell'eccitamento prodotto dal freddo, sia in ogni altra specie di eccitamento.

A temperature ancòra più basse, però, non solo l'acqua già libera, o una più o meno grande parte di essa, è impedita di imbevere la sostanza muscolare, ma anche quella che già in essa si trova allo stato di acqua d'imbibizione viene in parte separata dai colloidi (precisamente come ne vien separata allo stato di vapore per riscaldamento.

o nel vuoto ecc.) e solidificata. Nè questa separazione esige forze molto grandi, come hanno dimostrato Fischer e Bobertag ([21]) per gl'idrogeli reversibili, pur ammettendo che negl'idrogeli irreversibili le cose stiano alquanto diversamente. Il passaggio di acqua libera allo stato di acqua d'imbibizione, che segue all'azione della temperatura moderatamente bassa, non è causa di morte del muscolo: anzi rivela in questo uno stato di eccitamento, causato dal freddo moderato, agente come stimolo termico. La morte del muscolo avviene quando, per più forte raffreddamento, l'acqua d'imbibizione della sostanza muscolare ne viene separata allo stato solido. Brunow ([22]) ha osservato, che « der isolierte Gastrocnemius von *R. fusca* ist imstande eine temperatur von -2°,9 C auszuhalten, ohne seine Erregbarkeit völlig einzubüssen. Der Todespunkt liegt bei -3° C. etwa so wie bei *R. esculenta* ». Invece, « der im Tier verbliebene und normal durchblutete Muskel von *R. fusca* ist, wenn er bis -4°,06 C. gefroren gewesen war, nach dem Auftauen noch erregbar. Sein Todespunkt liegt bei -4°,1 bis-4°,2 C. Der durchblutete Muskel kann also zum mindestens eine un 1°,0 C. tiefere Temperatur aushalten als der isolierte ».

Senza indugiarmi sopra i risultati di altre ricerche di Jensen e Fischer ([23]), e dello stesso Fischer ([24]), vediamo ora che cosa avviene durante il disgelo. Probabilmente, l'acqua separatasi durante il congelamento allo stato solido, liquefacendosi durante il disgelo, imbeve di nuovo i colloidi muscolari, tanto più se, durante lo stimolo da sottrazione d'acqua, è avvenuta nel muscolo formazione di acidi, e quindi si deve avere accorciamento di esso, cioè « rigidità da freddo » per imbibizione. Infatti, il Brunow (loc. cit.) ha constatato che « bei tieferen Temperaturen tritt alsbald nach dem Auftauen Totenstarre ein und zwar um so schneller je tiefer der Muskel abgekühlt war ».

Già fin dal 1898 Loeb aveva ottenuto risultati, in base ai quali la rigidità cadaverica poteva essere spiegata in modo diverso da quello classico. Si può affermare che quelle ricerche segnino il principio della nuova teoria. J. Loeb osservò ([25]) che un muscolo di rana, immerso in una soluzione $^1/_8$ *n*, di Na Cl, per lungo tempo non modifica il suo peso; quella soluzione era, dunque, una soluzione isosmotica. In presenza di una piccolissima quantità di acido cloridrico, però, il muscolo assumeva molta acqua. Inoltre osservò che gli acidi organici agiscono nello stesso senso, e più fortemente di quanto sarebbe da aspettarsi dal loro grado di dissociazione elettrolitica.

Assai più importante, dal nostro punto di vista, fu l'osservazione di Loeb, che i muscoli rimasti a lungo in una soluzione di Na Cl diventano acidi, probabilmente in seguito a scissioni che si svolgono nel loro interno; e allora incominciano a rigonfiarsi. Quando in un muscolo, per difetto di ossigeno (anemia, obliterazione dei vasi sanguigni ecc.), si formano e si accumulano acidi in eccesso, allora il muscolo si rigonfia; in altre parole, si ha l'edema muscolare. Questa assunzione di acqua, Loeb la spiegò come effetto dell'aumento di pressione osmotica che si verificherebbe nel muscolo, causata a sua volta dal formarsi ed accumularsi in esso delle sostanze acide dianzi dette. Ci avviciniamo così alla nuova teoria chimico-fisica della rigidità muscolare.

Prima di esporre particolarmente questa teoria, però, voglio rammentare come il Sommer ([26]) accennasse a una « contrattilità fisica », e non « organica », delle fibre muscolari.

La nuova teoria chimico-fisica della rigidità muscolare si fonda sulla proprietà dei colloidi organizzati di imbeversi d'acqua a un grado superiore al normale quando su essi agisce un acido qualsiasi.

Un pregevole riassunto dei risultati sperimentali riguardanti l'importanza dell'imbibizione e della disimbibiziene nei fenomeni fisiologici trovasi in una recente pubblicazione di Przibram ([29]); quindi io mi limiterò a citare solo alcuni lavori che più particolarmente si riferiscono all'imbibizione dei muscoli. E in primo luogo, rammenterò quelli eseguiti, contemporaneamente alle ricerche del Fischer stesso e di Hirokawa ([30]), nel mio Istituto da me in collaborazione con Scalinci ([31]) sulla lente cristallina, e da Buglia ([32]) sui muscoli di rana, per mio consiglio e sotto la mia direzione.

Lasciando da parte il lavoro di Hirokawa, che riguarda il parenchima renale, e le nostre ricerche, che riguardano l'enorme aumento della imbibizione che presenta la lente cristallina quando è immersa in soluzioni acide o alcaline, consideriamo i risultati ottenuti dal Buglia. Questi ha osservato che il muscolo, immerso alla temperatura ambiente in soluzione N/7 di Na Cl contenente soluzione N/7 di HCl in proporzioni variabili, aumenta di peso, cioè s'imbeve, tanto più, quanto maggiore è la dose di acido aggiunta alla soluzione salina. Un aumento dell'imbibizione si osserva anche, se si eleva la temperatura del liquido sino a 40° C.; ma a temperature superiori, il muscolo torna a diminuire di peso; cioè, al processo d'imbibizione segue il processo opposto di disimbibizione. Le stesse cose si osservano aggiungendo, invece della soluzione acida, soluzione N/7 di Na OH; anzi le variazioni di peso, in tal caso, sono più accentuate. Le curve, prima ascendono fino a che la temperatura ha raggiunto i 40° C., quindi discendono verso l'ascissa, che poi oltrepassano anche.

Due anni dopo, C. Schwarz ([33]) ha osservato che muscoli di rana, i quali siano stati in riposo o abbiano lavorato, quando sono immersi in soluzioni isotoniche di cloruro di sodio (0,7-0,8 %) subiscono variazioni di peso rappresentate da curve che passano per un massimo; e secondo l'autore, il tratto ascendente di esse corrisponde a un fenomeno d'imbibizione del muscolo, mentre il tratto discendente corrisponde a un processo di disimbibizione. Ma c'è una differenza fra i muscoli che hanno e quelli che non hanno lavorato: questi presentano un assorbimento lentissimo di acqua, che nelle prime ore può anche mancare del tutto, e solo dopo 72-96 ore raggiunge, alla temperatura di 15-20° C., il massimo; quelli invece s'imbevono rapidissimamente di acqua, e l'imbibizione in essi raggiunge il massimo già dopo 5-18 ore. Il massimo assorbimento di acqua da soluzioni isotoniche, osservato dall'autore, fu di circa il 20-30 % del peso del muscolo, e fu lo stesso nei due gruppi di muscoli. L'imbibizione e la disimbibizione dei muscoli in riposo si spiega con la maggior produzione di acido lattico, che s'inizia subito dopo la separazione dei muscoli dal corpo e progredisce in seguito. Naturalmente, elevando la temperatura, si accelera la formazione dell'acido, e, con essa, l'imbibizione.

Per contro, un'abbondante somministrazione di ossigeno, forse perchè agevola la scomparsa dell'acido lattico, contrasta all'imbibizione e ritarda la rigidità cadaverica ([34]).

Beutner ([35]) si è opposto recentemente alle vedute degli autori precedenti, e in un lavoro fatto sotto l'inspirazione di Loeb si sforza di mantenere in vigore, se non in tutto, in parte, la teoria del maestro, affermando che nel muscolo vivente l'imbibizione è determinata da processi osmotici, e solo nel muscolo morto da processi colloidali. Questa netta distinzione, però, fra processi osmotici e colloidali verificantisi nel muscolo in tempi e condizioni diverse, mi sembra un poco artificiosa. Verosimilmente, gli uni e gli altri si verificano nel tempo stesso, determinando il passaggio dell'acqua nel muscolo.

La teoria dell' « imbibizione e disimbibizione », come oramai possiamo chiamare la nuova teoria che spiega con tali processi la rigidità cadaverica e la risoluzione di essa, ha ricevuto di recente un altro valido appoggio per opera di von Fürth e Lenk ([36]). Questi autori hanno osservato che i muscoli di rana immersi in soluzione variamente concentrata di acido lattico, presentano prima un rapido aumento del peso, e, dopo avere raggiunto un massimo fra la 20ª e la 30ª ora, di nuovo diminuiscono di peso, tanto che, in certi esperimenti, essi finiscono per perdere tutta l'acqua che avevano assorbita. Il processo di disimbibizione coinciderebbe, non con lo stato di rigidità, ma piuttosto con un processo di coagulazione delle proteine muscolari, succedente a quello. (Le curve dagli autori, tracciate coi dati delle variazioni di peso del muscolo, corrispondono perfettamente a quelle già costruite dal Buglia, le pubblicazioni del quale essi tuttavia non citano).

La nuova teoria potrebbe essere enunciata nel seguente modo. La rigidità cadaverica, di accordo anche con le vedute di Meigs ([37]), consiste in un processo di imbibizione del muscolo. L'aumento dell'imbibizione avviene così: cessata la circolazione del sangue ossigenato per i vasi dei muscoli, in questi si formano e si accumulano acido lattico e, probabilmente, anche acido carbonico e fosfato acido di potassio. Queste sostanze si combinano in gran parte con le proteine muscolari (il che costituisce una proprietà generale delle proteine, e non particolare della miosina, come credette Danilewsky) formando con esse dei sali mediocremente dissociabili, i cui ioni proteici presentano la capacità d'imbeversi d'acqua, d'idratarsi, più che le molecole proteiche non dissociate. Le fibre muscolari, assumendo acqua, si rigonfiano e si accorciano, dando luogo al fenomeno della rigidità. Ma la formazione dell'acido lattico continua; quando esso si trova in eccesso nel muscolo, determina la coagulazione o precipitazione delle proteine muscolari, alla quale corrisponde talora un visibile opacamento del muscolo. E poichè le proteine nell'atto in cui precipitano, perdono anche il potere di tener fissata l'acqua allo stato d'imbibizione, il muscolo presenta l'opposto fenomeno della disimbibizione, che si manifesta col fenomeno opposto a quello dell'accorciamento, cioè con l'allungamento, vale a dire con la risoluzione della rigidità. Tutti gli agenti e tutte le condizioni che agevolano l'imbibizione dei colloidi (presenza di acidi o di alcali, scarsezza di sali neutri, o presenza in eccesso di acqua libera, temperatura moderatamente alta ecc.) agevolano la rigidità cadaverica; tutti quelli che si oppongono al processo d'imbibizione (acidi in concentrazione tale da precipitare le proteine, sali neutri in eccesso, alte temperature ecc.) o inibiscono la rigidità, o determinano la risoluzione di una rigidità muscolare già in atto. Se l'imbibizione è determinata dalla formazione di sostanze acide nel muscolo,

si comprende che sono le condizioni agevolanti e acceleranti tale formazione quelle che agevolano o accelerano la rigidità, e sono le condizioni opposte quelle che la ritadarno o determinano la risoluzione di essa.

Abbiamo già veduto quali sono le prime; esaminiamo ora le seconde. Non v'ha dubbio che la formazione delle sostanze acide avviene solo finchè il muscolo è vivo o sopravvivente, vale a dire finchè è eccitabile e quando è eccitato: ciò resulta dalle ricerche di Fletcher ([38]). Se noi quindi raffreddiamo gradatamente il muscolo, in modo da renderlo ineccitabile, senza per altro produrre in esso alterazioni di sorta, noi possiamo sospendere in esso i processi metabolici e ritardare di molto la rigidità. Per sospendere la vita di un tessuto, senza distruggerlo, non v'è mezzo migliore del raffreddamento graduale e moderato. Ciò non toglie che un brusco raffreddamento costituisca per se stesso stimolo efficace, e quindi determini formazione di acidi.

Ma anche in condizioni fisiologiche, durante il lavoro muscolare normale, gli acidi si formano nel muscolo; si formano, ma non vi si accumulano; continuando la circolazione di sangue ossigenato, delle sostanze acide che si producono nel muscolo attivo, alcune possono verosimilmente esser portate via dalla corrente sanguigna (per es.: l'acido carbonico e i fosfati acidi), altre possono essere ossidate ovvero altrimenti trasformate (per es.: l'acido lattico) in sostanze diverse. Nel muscolo asportato, o lasciato nel corpo dopo la morte di questo, mancando la circolazione e l'arrivo di ossigeno, gli acidi si formano, perchè nel tessuto i processi metabolici non si arrestano istantaneamente, ma non sono nè portati via nè chimicamente trasformati; quindi vi si accumulano, ed esaltano nei colloidi muscolari il potere d'imbibizione: onde la rigidità.

Fletcher ([38]) infatti osservò che i fenomeni di fatica e la rigidità cadaverica possono essere ritardati o impediti, fornendo ai muscoli ossigeno in abbondanza. E Winterstein ([34]) potette constatare che, facendo agire l'ossigeno ad una pressione di più atmosfere, si può inibire nei muscoli dei mammiferi una rigidità cadaverica già iniziatasi. Analogamente, von Fürth e Lenk (loc. cit.) hanno veduto che, facendo agire l'ossigeno in grande quantità, si può ritardare la normale imbibizione del muscolo di rana. Le basse temperature, cioè il freddo, e l'ossigeno in abbondanza sono, dunque, i migliori mezzi atti a ritardare la comparsa della rigidità cadaverica.

L'imbibizione sarebbe così, secondo questa teoria, la causa dell'accorciamento che i muscoli presentano quando s'irrigidiscono. Ora è noto che, secondo un'altra recente ipotesi, un processo d'imbibizione sarebbe anche la causa della normale contrazione muscolare. Torniamo, quindi, all'antico modo di vedere, che cioè intime relazioni esistono fra contrazione fisiologica e rigidità cadaverica dei muscoli. Ma su ciò per ora, non insisto. Sulle teorie della contrazione muscolare tornerò in un'altra pubblicazione.

Qui voglio, ora, solamente aggiungere che, di conseguenza, essendo la rigidità muscolare accompagnata da due fenomeni svolgentisi parallelamente, cioè l'assunzione di acqua (di soluzione acquosa) da parte del muscolo e l'accorciamento di esso, per seguire il suo decorso, e anche lo svolgersi del fenomeno opposto, vale a

dire, della risoluzione della rigidità, si può o determinare il progressivo aumento e poi la diminuzione di peso del muscolo, ovvero registrare le variazioni di lunghezza di questo.

Da alcuni autori è stato seguìto l'uno, da altri l'altro metodo. I resultati ottenuti con i due metodi possono, anzi debbono essere fra loro confrontati, perchè tale confronto conduce a importanti conclusioni. Essendo stato in questo laboratorio già adottato il primo metodo dal Buglia, io ho preferito adottare il secondo; e ho già nel capitolo precedente esposto brevemente i resultati delle ricerche fatte sul mio preparato diaframmatico di cani e di altri mammiferi, per quanto riguarda i muscoli striati; mentre le ricerche fatte sul muscolo retrattore del pene, cioè su un muscolo liscio, formeranno oggetto della Memoria successiva.

***

Cerchiamo, ora, di riassumere e interpretare i risultati da me ottenuti.

Non credo si possa dubitare che il processo d'imbibizione sia un fattore importantissimo, anzi fondamentale, dell'accorciamento che muscoli striati e lisci presentano quando sono sottoposti all'azione dell'acqua o di soluzioni ipotoniche, degli alcali, e finalmente quando in essi si svolge spontaneamente quel fenomeno che dicesi rigidità cadaverica.

Data la composizione colloidale dei muscoli, non può recar maraviglia che i colloidi di questi seguano le leggi dell'imbibizione degl'idrogeli, in generale.

Evidentemente, l'accorciamento per acidi o alcali o per rigidità cadaverica ecc., sarebbe assai più cospicuo, se il processo d'imbibizione si svolgesse in assenza di sali, che lo deprimono. Negli esperimenti, gli acidi o gli alcali sogliono essere aggiunti al liquido di Ringer o alla soluzione salina, e quindi si capisce come talora l'accorciamento possa essere notevolmente minore di quello che produce la sola acqua distillata.

Nel corpo degli animali, poi, non solo il processo d'imbibizione avviene in presenza di sali, ma a disposizione del muscolo che s'imbeve c'è anche meno acqua libera: il processo d'imbibizione, quindi, incontra qui notevoli difficoltà a svolgersi; e ciò spiega, in parte, perchè l'accorciamento dei muscoli colpiti da rigidità cadaverica *in situ* non è mai molto grande.

Nelle rigidità sperimentalmente provocate con acidi o alcali, sono questi acidi o alcali aggiunti; nel *rigor mortis* naturale è, invece, l'acido che si forma e si accumula nei muscoli, la causa dell'aumentata imbibizione e dell'accorciamento. Le soluzioni ipertoniche, stimolando i muscoli, vi provocano anche la formazione di acidi; ma l'eccesso dei sali ostacola l'imbibizione dei colloidi muscolari, e l'accorciamento non può aver luogo o, se pur avviene, è irrilevante.

Un altro gruppo di accorciamenti da rigidità è quello costituito dagli accorciamenti terminali che provocano la veratrina, la nicotina etc., la digitalina, l'elleboreina, etc., il cloroformio, l'etere e sostanze affini (ved. il capitolo precedente). Se a un unico fattore essenziale debbono essere riportate tutte le forme di rigidità, per spiegare anche quelle che compongono questo gruppo, bisogna ammettere che,

per l'azione delle dette sostanze in dose sufficiente, si forma nei muscoli tanto acido quanto almeno se ne forma nei muscoli morenti: tanto acido da produrre nei muscoli, sottoposti all'influenza di quelle sostanze, un accorciamento terminale almeno pari a quello che si verifica nel naturale *rigor mortis*.

Non in tutti i casi sono state dimostrate la formazione dell'acido e l'imbibizione. Ma del cloroformio, per es., si sa che è il mezzo più semplice per provocare nei muscoli, insieme con una rigidità di altissimo grado, anche la formazione di acido lattico in quantità assai grande. Ora, non v'è ragione di dubitare che gli stessi caratteri presenti la rigidità provocata dalla veratrina o dalla nicotina, dai sali di potassio o di bario, ecc.

Le rigidità da freddo e da caldo si deve ammettere che abbiamo la stessa origine. Si comprende, per altro, che le alte temperature, accelerando le reazioni onde nascono gli acidi muscolari, sono, assai più delle basse, efficaci nel produrre il fenomeno della rigidità. Ma anche nell'intimo meccanismo le due forme di rigidità debbono differire un poco. Mentre, infatti, in quella da caldo il processo dell'imbibizione è agevolato probabilmente dall'eccesso di acidi che si formano, in quella da freddo lo è dall'acqua, già separatasi in forma di ghiaccio, che si fonde al momento del disgelo e costituisce, per le fibre muscolari, una condizione in certo modo analoga a quella in cui si trova il muscolo immerso in acqua distillata.

Alla teoria dell'imbibizione potrebbe essere mossa la seguente obiezione: Se nei muscoli *in situ* e in quelli tenuti, fuori dal corpo, immersi in soluzione fisiologica, l'acqua necessaria per il processo d'imbibizione trovasi sempre disponibile, di quale acqua si imbeveranno i muscoli separati dal corpo e sospesi solo in aria più o meno umida, che presentano egualmente il fenomeno della rigidità, dovendosi escludere (per note proprietà degl'idrogeli amorfi o organizzati che già si trovano a un certo grado d'imbibizione) l'assorbimento del vapore d'acqua circostante? Non c'è che una sola risposta da dare al quesito.

Non potendosi ammettere che tutta l'acqua, contenuta normalmente in un muscolo si trovi già allo stato di acqua d'imbibizione, nel fenomeno della rigidità (come, del resto, in quello della contrazione rapida e della contrattura) è l'acqua libera degli spazii interstiziali o delle stesse fibre, che passa allo stato di acqua d'imbibizione, fissandosi ai colloidi muscolari. Quest'acqua tornerebbe poi allo stato di acqua libera, nelle contrazioni e contratture fisiologiche durante il processo di allungamento, e nei fenomeni di rigidità quando questa si risolve. In ambedue i casi, l'acqua, già allo stato d'imbibizione, diviene acqua libera per un processo di disimbibizione o disidratazione delle micelle colloidali; in ambedue i casi noi siamo davanti a un processo reversibile. Ma c'è una differenza fondamentale. Nei fenomeni di contrazione rapida e di contrattura fisiologica, il processo reversibile, se non decorre in modo perfettamente omodromo, riconduce tuttavia le sostanze contrattili allo stato primitivo, e restituisce loro la capacità funzionale originale; nei fenomeni di rigidità, invece, il processo decorre in modo eterodromo, in quanto che l'acqua, è vero, torna ad abbandonare i colloidi muscolari, e il muscolo torna pure ad allungarsi, ma le sostanze contrattili non tornano più allo stato primitivo: il muscolo perde la sua capacità funzionale. Infatti, si ammette che le proteine muscolari, nella rigi-

dità, sono precipitate da quegli stessi acidi che in concentrazione minore ne avevano esaltato il potere d'imbibizione.

A sostegno di questo modo di vedere stanno i già pubblicati risultati delle mie ricerche sul succo muscolare ([17]) e altri di ricerche ancora inedite. Non solo bastano concentrazioni piccolissime di acido ad accelerare di molto il processo di agglutinazione dei granuli ultramicroscopici da me scoperti nel succo muscolare (ottenuto per spremitura al torchio idraulico); ma anche il succo limpidissimo, che si ottiene dopo la totale separazione della massa granulare, se è tenuto in termostato alla temperatura di 38° C., mentre si acidifica spontaneamente, s'intorbida e lascia precipitare un materiale proteico fioccoso, che è mioproteina già sciolta nel succo. E tale precipitazione è continua alla detta temperatura. Ma alla temperatura dell'ambiente, si rallenta tanto da sembrare cessata Se, quindi, raffreddato il liquido, lo si filtra, esso è limpidissimo, e tale rimane per giorni e giorni. Ma basta esporlo di nuovo alla temperatura di 38°, perchè in esso torni a formarsi un precipitato, che lentamente si deposita al fondo. Il processo si ripete più e più volte, finchè c'è proteina da precipitare. E il liquido si dimostra sempre acido. Le proteine muscolari, dunque, sono labilissime, specialmente di fronte all'azione degli acidi.

S'intende, quindi, come una piccola quantità di acido, combinandosi con esse, debba, conforme a quanto si sa dei colloidi in generale, esaltarne il potere d'imbibizione o idratazione; mentre un eccesso di acido debba produrre il fenomeno opposto della disidratazione accompagnata da granulificazione e precipitazione del colloide.

Non è possibile dire, per ora, se i processi d'imbibizione e di disimbibizione, determinanti l'accorciamento da rigidità e l'allungamento corrispondente alla risoluzione di essa, si svolgano tanto nella miofibrilla quanto nel sarcoplasma, ovvero solamente in quella o in questo. Io spero che le ricerche d'imbibizione e di viscosità sui due materiali fondamentali separati, che costituiscono gli elementi muscolari, abbiano a gettare un po' di luce su questo problema. Comunque sia, è prudente, tenersi lontani da ogni esclusivismo, e ammettere come possibile che ai processi sopra detti partecipino, sebbene in grado diverso, tanto le miofibrille quanto il sarcoplasma.

BIBLIOGRAFIA

([1]) W. Kühne, *Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität.* Leipzig, 1864.

([2]) W. Kühne, *Untersuchungen über Bewegungen und Veränderungen der contractilen Substanz.* Arch. f. Anat. und Physiol., a. 1859, pp. 564-640, 748-835 (pag. 788).

([3]) J. Müller, *Manuel de Physiologie* (trad. sur la 4me édit. allem. par A. J. L. Jourdan), II, pag. 43. Paris, 1845.

([4]) E. Brücke, *Ueber die Ursache der Todtenstarre.* Arch. f. Anat. u. Physiol., pag. 178, a. 1842.

([5]) C. Ludwig, *Lehrb. der Physiol. des Menschen,* I, pp. 346-347. Heidelberg, 1852.

([6]) L. Hermann, *Handb. der Physiol.,* I (1), pp. 140-153, Leipzig 1879; O. Nasse, ibidem, I (1), pp. 261-340; von Frey, *Nagels Handb. der Physiol.,* IV (2), I. Theil, pp. 427-431, Braun-

schweig 1907; O. von Fürth, *Oppenheimer's Handbuch d. Biochem.*, II (2), pp. 252-259, Jena 1909.

(7) A. Danilewsky, *Myosin, seine Darstellung, Eigenschaften, Umwandlung in Syntonin und Rückbildung aus demselben.* Zeit. f. physiol. Chem., V, pag. 158, a. 1881.

(8) C. Schipiloff, *Ueber die Entstehungsweise der Muskelstarre.* Centr. f. d. med. Wiss., pag. 291, a. 1882.

(9) J. Mellanby, *Muscle plasma.* Journ. of Physiol., XXXVII, pag. xxxiv, a. 1908.

(10) O. von Fürth, *Ueber die Gerinnung der Muskeleiweisskörper und deren mutmassliche Beziehung zur Totenstarre.* Hofmeister's Beitr., III, pag. 543, a. 1903.

(11) F. G. Hedin, Zeit. f. physiol. Chem. XXXII, pag. 537, a. 1901; R. Vogel., Deut. Arch. f. klin. Med., LXXII, pag. 292, a. 1902; S. Schmidt-Nielsen, Hoifmeister's Beitr., IV, pag. 182, a. 1904; L. Delrez, Arch. intern. de Physiol., I, pag. 159, a. 1904; M. Oker-Blom, Skand. Arch. f. Physiol., XIV, pag. 48, a. 1903.

(12) Fil. Bottazzi, *Das Cytoplasma und die Körpersäfte.* — I. Teil: *Cytoplasma und Zellsäfte* in: H. Winterstein's Handb. d. vergl. Physiol., I, pag. 1. Jena, 1911.

(13) M. Bierfreund, *Untersuchungen über die Todtenstarre.* Pflüger's Arch., XLIII, pag. 195, a. 1888.

(14) J. Karpa, Pflüger's Arch., CXIX, pag. 199, a. 1906.

(15) M. Schiff, *Lehrbuch der Physiol. d. Menschen*, I, pp. 48-52. Lahr, 1858-1859.

(16) G. Galeotti, Zeit. f. physiol. Chem., LXXVIII, pag. 421, a. 1912.

(17) Fil. Bottazzi et G. Quagliariello, *Recherches sur la constitution physique et les propriétés chimico-physiques du suc des muscles lisses et des muscles striés.* Arch. intern. de Physiol. XII, pp. 234-246, 289-317, 409-448, a. 1912; Fil. Bottazzi, Rend. R. Accad. Lincei (5), vol. XXI, 2° sem., pag. 493, a. 1912; Fil. Bottazzi e G. Quagliariello, Rend. R. Accad. Lincei (5), vol. XXII, 2° sem., pag. 52, a. 1913; Fil. Bottazzi e E. D'Agostino, Ibid., pp. 183 e 307.

(18) H. D. Dakin and H. W. Dudley, Journ. of biol. chem., XIV, pp. 155, 423 e 555, a. 1913; XV, pag. 463, a. 1913; XVI, pag. 505, a. 1914; Id. id., Bioch. Zeit., LIX, pag. 193, a. 1914; C. Neuberg, Bioch. Zeit., LIX, pag. 194, a. 1914.

(19) O. Folin, *On « rigor mortis »*. Amer. Journ. of physiol, IX, pag. 374, a. 1913.

(20) H. W. Fischer und P. Jensen, *Das Wasser im Muskel.* Bioch. Zeit., XX, pag. 143, a. 1909.

(21) H. W. Fischer und O. Bobertag, *Ueber das Ausfrieren von Gelen.* Bioch. Zeit., XVIII, pag. 58, a. 1909.

(22) H. Brunow, *Der Kältetod des isolierten und durchbluteten Froschmuskels.* Zeit. f. allg. Physiol., XIII, pag. 367, a. 1912.

(23) P. Jensen und H. W. Fischer, *Der Zustand des Wassers in der überlebenden und abgetöten Muskelsubstanz.* Zeit. f. allg. Physiol., XI, pag. 90, a. 1910; Idem Idem, *Der Gefriertod der Muskeln.* Zentr. f. Physiol., XXIII, pag. 297, a. 1898.

(24) H. W. Fischer, *Gefrieren und Erfrieren.* Sep.-Ausdr. aus « Beitr. zur Physiol. der Pflanzen » von Cohn. Breslau, 1912.

(25) J. Loeb, *Physiologische Untersuchungen über Ionenwirkungen.* I. Pflüger's Arch., LXIX, pag. 1, a. 1897; II. ibidem, LXXI, pag. 457, a. 1898.

(26) Sommer, *Dissertatio de signis mortem hominis absolutam indicantibus.* Havniae, 1833.

(27) M. H. Fischer, *Das Oedem.* Dresden, 1911.

(28) K. Spiro, Hofmeister's Beitr., V, pag. 276, a. 1904; Wolf. Ostwald, Pflüger's Arch., CVIII, pag. 563, a. 1905. Ved. inoltre le opere di chimica sui Colloidi; e il mio lavoro, *Cytoplasma und Körpersäfte*, loc. cit.

(29) E. Przibram, *Die Bedeutung der Quellung und Entquellung für physiologische und pathologische Erscheinungen.* Kolloidchem. Beihefte, II, pag. 1, a. 1910.

(30) W. Hirokawa, Hofmeister's Beitr., XI, pag. 404, a. 1908.

(31) Fil. Bottazzi e N. Scalinci, *Imbibizione della lente in acqua a diverse temperature, in acidi e in alcali.* Rendic. R. Accad. d. Lincei (5), XVIII (2° sem.), pag. 327, a. 1909; Idem Idem,

Influenza del cloruro di sodio sull'imbibizione della lente in soluzioni acide e di NaOH. Ibid., pag. 423.

(32) G. Buglia, *Variations de poids du muscle plongé à différentes températures dans des solutions de chlorure de sodium pures ou additionnées de* HCl *ou de* NaOH.etc. Arch. intern. de Physiol., VIII, pag. 273, a. 1909.

(33) C. Schwarz, *Ueber die Quellung und Entquellung ruhender und tätig gewesener Froschmuskeln in isotonischen Kochsalzlösungen.* Bioch. Zeit., XXXVII, pag. 34, a. 1911.

(34) H. Winterstein, *Ueber die physiologische Natur der Totenstarre des Muskels.* Pflüger's Arch., CXX, pag. 225, a. 1907.

(35) R. Beutner, *Unterscheidung kolloidaler und osmotischer Schwellung beim Muskel.* Bioch. Zeit., XXXIX, pag. 281, a. 1912.

(36) O. von Fürth und E. Lenk, *Die Bedeutung von Quellungs- und Entquellungsvorgängen für den Eintritt und die Lösung der Totenstarre.* Bioch. Zeit., XXXII, pag. 341, a. 1911.

(37) E. B. Meigs, *The effects of distilled water and of various solutions on the weight and length of striated muscle.* Amer. Journ. of physiol., XXIV, pag. 191, a. 1910.

(38) W. M. Fletcher, *The osmotic properties of muscle, and their modifications in fatigue and rigor.* Journ. of Physiol, XXX, pag. 414, a. 1404; XLIII, pag. 286, a. 1911; W. M. Fletcher and F. G. Hopkins, Journ. of Physiol., XXXV, pag. 247, a. 1907.

CAPO VII.

Conclusioni e considerazioni generali.

Un preparato neuro-muscolare, composto di un pezzo più o meno lungo di nervo frenico, e di una striscia larga 5-7 mm. di diaframma, resecata da ambo i lati, in corrispondenza dell'inserzione del nervo nel muscolo, e portante a una delle estremità un pezzetto di costola e all'altra un pezzetto di centro tendineo da servire per la sospensione del muscolo; un preparato così fatto, quale si può ottenere comodamente da piccoli cani, da gatti e conigli, da feti di cane in un periodo mediocremente avanzato, e da feti di bue in un precocissimo periodo dello sviluppo, si è dimostrato utile sotto ogni rispetto per ricerche di fisiologia muscolare e delle giunzioni neuro-muscolari di animali omeotermi, quando sia, durante gli esperimenti, mantenuto a temperatura conveniente e in liquido di Ringer perfettamente ossigenato. Su questo preparato si possono eseguire tutte le ricerche finora fatte sui preparati neuro-muscolari di rana o di altro animale pecilotermo.

La durata della sopravvivenza del preparato frenico-diaframmatico dipende principalmente dalla temperatura alla quale lo si conserva e dal lavoro che ad esso si fa eseguire: quanto più alta è la temperatura (vale a dire più prossima a quella normale del corpo) e più intenso il lavoro che compie, tanto minore è la sopravvivenza del preparato. Oltre a ciò, fattori che in generale abbreviano la sopravvivenza sono: l'essere il muscolo diaframmatico entrato in tetano ripetuto e violento durante la morte dell'animale e l'allestimento del preparato; un troppo grande spessore della striscia muscolare (per es. nei preparati provenienti da cani di grossa mole), per la insufficiente ossigenazione delle fibre profonde; trapassi bruschi dalla temperatura del corpo a temperature esteriori troppo basse, e da queste a temperature prossime a quella del corpo ecc. Vi sono però casi nei quali, non ostante tutte le precauzioni consigliate dall'esperienza, il preparato diaframmatico s'irrigidisce in un tempo relativamente breve, e perde la sua eccitabilità, per cause ignote.

La sopravvivenza del muscolo è, di regola, assai grande (parecchie ore), a giudicare dalla sua eccitabilità; quella del nervo io non ho particolarmente esplorata, ma è verosimile che sia anch'essa grande, almeno quanto quella del muscolo, se il frenico si comporta come gli altri nervi. Di solito, assai prima del muscolo, cessano di funzionare le giunzioni neuro-muscolari. Infatti, la conduttività neuro-muscolare, cioè la propagazione degl'impulsi nervei alle fibre muscolari, cessa relativamente presto, talora in meno di 1 ora; solo in casi non frequenti si conserva per più ore di seguito.

Registrando i movimenti del preparato neuro-muscolare sopra un cilindro affumato ruotante a piccola velocità; esplorando la conduttività neuro-muscolare e la eccitabilità del muscolo mediante stimoli di corrente indotta d'apertura applicati al nervo o al muscolo a lunghi intervalli o con ritmo di frequenza variabile fino a quella mas-

sima che è capace di produrre presto i fenomeni della fatica: ponendo il preparato in condizioni fisiche svariate e sotto l'influenza di sostanze chimiche diverse, aggiunte al liquido di Ringer in cui esso trovasi immerso, ho osservato una quantità di fatti, che meritano di essere brevemente riassunti.

Frequentemente il muscolo entra, subito o poco dopo l'immersione nella soluzione fisiologica, in uno stato di più o meno cospicuo accorciamento durevole, il quale talora presenta anche oscillazioni più o meno ampie. Il detto accorciamento può essere considerato come una *contrattura iniziale*, appunto perchè è caratteristico del periodo iniziale della sopravvivenza, prima che il preparato sia comunque stimolato o sottoposto ad azioni diverse. La contrattura dura un certo tempo, per altro variabile secondo i preparati, e poi si risolve, spontaneamente come sembra essersi generata, mentre il muscolo raggiunge lo stato di massimo allungamento di cui è capace.

Spessissimo, durante tale contrattura appariscono sul tracciato, oltre alle già accennate oscillazioni del tono, *scosse* o *contrazioni muscolari rapide*, piccole o di mediocre altezza, succedentisi con un ritmo di frequenza non tanto grande che esse non si disegnino distintamente sul cilindro ruotante a piccola velocità (circa 10 mm. per 1'). In alcuni casi, queste piccole *contrazioni ritmiche spontanee* appariscono indipendentemente da ogni fenomeno di contrattura, o persistono per qualche tempo dopo che la contrattura si è risoluta.

Con la contrattura e con queste contrazioni ritmiche spontanee coincide per lo più la massima eccitabilità del preparato neuro-muscolare: stimoli unici debolissimi di corrente indotta d'apertura, applicati al nervo o al muscolo, provocano allora contrazioni altissime. (Sull'aspetto che talora presentano queste contrazioni, quando sono registrate sul cilindro ruotante a grande velocità. Mi fermerò di proposito in un'altra prossima pubblicazione). A questa esaltata eccitabilità segue ordinariamente un'eccitabilità media, che può dirsi normale per lo stato di sopravvivenza.

In alcuni casi, dopo la contrattura, la conduttività neuro-muscolare apparisce depressa e per lo più cessa poco dopo, mentre l'eccitabilità del muscolo persiste ancòra per molto tempo.

La frequente coincidenza della contrattura iniziale spontanea e delle spontanee contrazioni ritmiche con un periodo di esaltazione della eccitabilità e conduttività neuro-muscolare merita di essere segnalata.

Le stimolazioni fatte a grandi intervalli o quelle ritmiche di mediocre frequenza, applicate al nervo o al muscolo durante la contrattura, inibiscono il tono muscolare: transitoriamente, quando si tratta di stimolazioni uniche o di gruppi di poche stimolazioni applicate a grandi intervalli; regolarmente e progressivamente, se si tratta di stimolazioni ritmiche. Il muscolo si viene così mano mano allungando.

Per contro, se il muscolo freschissimo si trova da principio in stato di completo allungamento, le stimolazioni ritmiche possono avere per effetto di provocare in esso una contrattura più o meno cospicua, particolarmente quando le stimolazioni sono applicate al nervo e sono di una certa intensità (superliminare). In tali casi la *linea basale* (congiungente le basi delle singole contrazioni cloniche del tracciato) rappresenta una curva con concavità vòlta in basso, e richiama alla memoria la curva di

una lenta contrazione di muscolo liscio. Nel tempo medesimo, la *linea apicale* (congiungente gli apici delle singole contrazioni) del tracciato può rappresentare una curva con convessità vòlta in alto. Mentre le contratture iniziali spontanee sono per lo più irregolari, e spesso presentano ondulazioni (oscillazioni del tono), le contratture iniziali provocate da stimolazioni elettriche ritmiche assumono sempre l'aspetto di una regolare contrazione assai lenta, somigliante, come ho detto, alla contrazione di un muscolo liscio.

Queste contratture non appariscono quasi mai durante l'ulteriore sopravvivenza del preparato. Esse, come le contratture spontanee e le spontanee contrazioni ritmiche, sono caratteristiche del periodo iniziale della sopravvivenza, quando cioè l'eccitabilità del nervo e del muscolo e la conduttività neuro-muscolare sono, come ho detto, al massimo grado sviluppate, o addirittura esaltate.

I muscoli striati, dunque, presentano due ordini di fenomeni: tonici e clonici, anche indipendentemente da ogni azione stimolante esteriore, cioè automaticamente. Ma gli stessi fenomeni possono essere provocati, oltre che dagli stimoli elettrici, anche da varie condizioni fisiche e azioni di sostanze chimiche.

Prima di riassumere i resultati sperimentali riguardanti l'attività tonica provocata specialmente per mezzo di sostanze chimiche, è necessario, però, distinguere i fenomeni tonici d'indole fisiologica dagli accorciamenti muscolari che li simulano mentre sono espressione d'un'alterazione irreversibile delle sostanze contrattili: voglio dire dai fenomeni di rigidità muscolare. Tale distinzione non è sempre agevole, perchè spesso la contrattura (accorciamento tonico) di un muscolo passa gradatamente in rigidità.

Io propongo che *si chiami contrattura ogni fenomeno tonico fisiologico durevole*, rigettando anche l'espressione di *contrazione tonica* usata da alcuni, la quale va riservata per quell'accorciamento secondario che accompagna, seguendola, la *contrazione clonica*, insieme con la quale costituisce la ordinaria *contrazione doppia*, che il muscolo striato normale, o posto in condizioni sperimentali determinate, compie in risposta a uno stimolo unico, e che assume il suo più cospicuo sviluppo nel muscolo veratrinizzato (ved. per tutto ciò un'altra mia prossima pubblicazione, dedicata particolarmente alle contrazioni provocate da stimoli unici nel preparato diaframmatico).

La *contrazione* che un muscolo veratrinizzato compie in risposta a uno stimolo unico di sufficiente intensità è, infatti, una *contrazione doppia* tipica, cioè composta di una *contrazione clonica* (o primaria, o rapida), equivalente alla comune *contrazione semplice* di un muscolo di rana, e di una *contrazione tonica* (o secondaria, o lenta). Siccome anche questa contrazione tonica, per quanto prolungata e lenta, è sempre assai più rapida degli accorciamenti tonici iniziali sopra descritti, per distinguere questi da quella li chiameremo *contratture*, siano esse spontanee, siano provocate.

Questi accorciamenti tonici, a loro volta, si distinguono dagli *accorciamenti muscolari da rigidità*: 1°) perchè sono caratteristici dei muscoli freschissimi e massimamente eccitabili, e si presentano, specialmente quando sono spontanei, solo in un periodo iniziale dell'attività del muscolo sopravvivente, mentre la rigidità è accompagnata da grande depressione o da abolizione della eccitabilità, non solo indiretta, ma anche diretta; 2°) perchè la contrattura è un fenomeno reversibile, e, dopo la

sua risoluzione, il muscolo è, almeno direttamente, ancòra e per molto tempo bene eccitabile: mentre la rigidità, pure si risolve, ma lascia il muscolo ineccitabile, il che dimostra che l'allungamento del muscolo già irrigidito non rappresenta una reale reversione del fenomeno, cui è dovuto l'accorciamento da rigidità, ma un'alterazione profonda e definitiva della sostanza muscolare. Questi sono i criteri fondamentali per distinguere una contrattura da una rigidità. Ve ne sono però altri secondari. Per es., l'accorciamento da rigidità, nei muscoli striati, spesso è maggiore dell'accorciamento contratturale spontaneo o provocato da stimolazioni ritmiche di frequenza non tetanizzante. La rigidità è un fenomeno per lo più tardivo, sia quella spontanea, cioè il vero *rigor mortis*, sia quella che segue all'azione di certe sostanze chimiche; ma la rigidità, come quella provocata dal calore etc., può avvenire in qualunque momento, ed essere rapidissima.

Stabilite queste distinzioni e la rispettiva nomenclatura convenzionale, passiamo in rassegna le varie specie di contratture e di rigidità, che possono essere provocate sperimentalmente.

Le basse temperature provocano nei muscoli striati, separati dal corpo, più che contratture attuali, una spiccata tendenza alla contrattura, ma verosimilmente anche contratture di grado debolissimo; le temperature più alte, invece, deprimono e abolisconо il tono. Onde lo sperimentatore che cerca di mettere in evidenza l'attività tonica dei muscoli, deve mantenere questi a temperature di alcuni gradi inferiori a quella normale del corpo.

Altre condizioni che accentuano la proprietà tonica sono: 1°) l'incompleta differenziazione istologica dei muscoli: infatti, i muscoli embrionali presentano in alto grado sviluppata la contrattilità tonica, o compiono, quando sono stimolati, addirittura semplici contrazioni toniche; 2°) la struttura delle fibre muscolari che è propria dei così detti « muscoli rossi », nei quali pare che il sarcoplasma si trovi, rispetto alle miofibrille, in proporzione maggiore che non nei muscoli detti « bianchi » : fra i muscoli rossi, quelli deputati a funzione eminentemente tonica (in certi animali) presentano attività tonica maggiore di quella di altri; 3°) gli stati degenerativi, artificialmente indotti nei muscoli, o seguenti all'azione di veleni, nei quali stati pare che le miofibrille siano di preferenza e più precocemente colpite che non il sarcoplasma: e certi speciali stati patologici dell'apparato neuro-muscolare, quali per es. si riscontrano nella « miotonia congenita » e nella « catatonia ».

Gli acidi indistintamente (minerali e organici), compreso l'acido carbonico; molti alcaloidi specificamente contratturanti, a capo dei quali sta la veratrina, e fra i quali sono da noverare anche la nicotina, e i glicosidi in generale (digitalina, elleboreina, antiarina, strofantina etc.), provocano contratture tipiche. Fra gli acidi, i due più importanti da prendersi in considerazione sono l'acido carbonico e l'acido lattico, perchè è dimostrato che si formano nei muscoli durante la loro normale attività. Per il primo, Lhotàk von Lhota ha dimostrato nei muscoli di rana, ed io per il preparato diaframmatico (*), che può provocare notevoli contratture (accorciamenti tonici), le

(*) Ved. una mia prossima pubblicazione riguardante in modo speciale l'azione che i gas respiratori esercitano sul preparato diaframmatico.

quali possono manifestarsi, sia sotto l'aspetto più tenue di semplice elevazione della linea basale, sia sotto quello più cospicuo di contratture altissime. Quanto all'acido lattico, io credo che a quello che si forma nel muscolo sia appunto dovuta la contrattura provocata nel muscolo fresco da stimolazioni ritmiche seguentisi con una certa frequenza. Se poi è aggiunto al liquido di Ringer in cui trovasi immerso il preparato, provoca anch'esso contratture altissime.

Gli alcali (la NaOH, l'ammoniaca etc.), provocano anche un accorciamento tonico, che in nulla di essenziale differisce da quelli dianzi descritti.

Nel muscolo la veratrina provoca non solo, come ho dimostrato io nel 1901, una contrattura indipendentemente da qualsiasi altra stimolazione esteriore, e che perciò non è accompagnata da alcuna alta contrazione rapida, bensì, spesso, da contrazioni ritmiche automatiche: ma anche (come abbiamo dimostrato, L. von Lhota nei muscoli della rana iniettando il veleno nell'animale, ed io nel preparato diaframmatico esponendolo all'azione del veleno dopo la separazione dal corpo) provoca una tale tendenza alla contrattura che, applicando poi ai muscoli stimoli relativamente deboli, essi sono capaci di rispondere con contrazioni toniche pure, cioè con contrazioni lente, analoghe a quelle dei muscoli embrionali (Weiss, Bottazzi) o dei muscoli molto raffreddati [Gayda, Bottazzi (*)], nelle quali non può scorgersi traccia di una contrazione clonica (primaria o rapida).

Gli acidi, gli alcali, la veratrina provocano nei muscoli striati un fenomeno singolare, di cui io posseggo tracciati di una straordinaria evidenza; voglio dire due accorciamenti successivi, separati da un allungamento più o meno durevole, cioè da un avvallamento della curva fra le due elevazioni. Stando alle definizioni sopra dette e al modo di comportarsi del preparato in simili casi, io considero come contrattura il primo, come rigidità il secondo accorciamento (almeno nella sua parte terminale). E quindi si comprende perchè il duplice accorciamento si ottiene solo nei muscoli freschi e vigorosi, che non si sono ancòra affaticati, e solo con dosi di veratrina non eccessivamente alte (del resto, variabili secondo l'eccitabilità del preparato).

Circa l'azione della veratrina e della nicotina, si può constatare che le dosi piccole producono nel preparato una specie di adattamento, per cui le dosi maggiori, aggiunte di poi, si dimostrano meno efficaci. Ma lo stesso può dirsi, sebbene in grado diverso, probabilmente di tutte le sostanze contratturanti.

Fra queste debbono essere annoverate ancòra l'alcool, l'etere e il cloroformio, secondo le belle ricerche di E. Rossi e di altri; alcuni sali in soluzione piuttosto concentrata (E. Rossi ecc.), fra i quali non bisogna dimenticare gli ossalati ecc.; e finalmente devesi rammentare il passaggio della corrente costante, sia per il nervo, come direttamente per il muscolo.

Sotto l'influenza della corrente costante, si osservano di seguito questi fenomeni: 1) contrazione catodica di chiusura; 2) contrazioni ritmiche seguenti immediatamente la chiusura, le quali mano mano si riducono a piccole dentellature; 3) contrattura che dura per tutto il tempo del passaggio della corrente (crescente in altezza con la forza della corrente); 4) contrazione anodica di apertura, seguìta

(*) Anche le ricerche alle quali qui accenno saranno prossimamente pubblicate.

anch'essa da contrazioni ritmiche più o meno cospicue; 5) ritorno della leva all'ascissa, più o meno rapidamente, secondo i casi.

La funzione tonica dei muscoli striati, quando è al massimo grado esaltata, come per es. sotto l'influenza della veratrina, presenta cospicue oscillazioni del tono (Santesson, Bottazzi, von Lhota), che somigliano a quelle osservate dal Fano nell'atrio dell'*Emys europaea*. Le osservò anche Kuliabko nei ventricoli del cuore di coniglio, in condizioni simili a quelle che le fanno apparire nei muscoli striati; e verosimilmente alla stessa causa, che determina la comparsa delle oscillazioni del tono atriale, sono dovute le « onde di contrazione » (« Contractionswellen ») osservate dal Rollett nei muscoli degl'Insetti separati dal corpo, la contrazione idiomuscolare e il « movimento peristaltico » (« peristaltische Bewegung ») osservato da M. Sciff nei muscoli striati, e finalmente certe ondulazioni periodiche osservate dallo Schönlein nei muscoli normali di rana e da varî altri autori in certe contrazioni tetaniche. Le oscillazioni del tono sono una manifestazione fisiologica ordinaria dell'attività dei muscoli lisci. La loro comparsa nei muscoli striati, sebbene avvenga solo in determinate condizioni, conferma il mio modo di vedere, che la funzione tonica non sia proprietà esclusiva dei muscoli lisci, ma che in questo sia solamente più sviluppata (ved. appresso).

Tutte le sostanze contratturanti sopra nominate provocano (se fatte agire in dose forte, rapidamente; se in dose mediocre, dopo un tempo maggiore) un accorciamento terminale che dicesi rigidità. Varia la dose per gli acidi, e le varie specie di acidi (il meno efficace è l'acido carbonico, s'intende), per gli alcali, per la veratrina e la nicotina, per i vari glicosidi, ecc.; ma, alla fine, tutte queste sostanze provocano, più o meno presto, rigidità più o meno cospicua. Oltre ad esse, anche l'acqua distillata, sostituita al liquido di Ringer, provoca fortissimo accorciamento.

In tutti questi casi, l'eccitabilità del muscolo non cessa repentinamente; ma prima decresce mano mano, e solo dopo qualche tempo è abolita. Ciò dimostra che l'accorciamento in questione è anch'esso, da principio, un fenomeno reversibile. Infatti, si può far scomparire una rigidità incipiente, e così restituire al muscolo la sua eccitabilità, se non in tutto, in parte. In altre parole, il periodo incipiente di quell'accorciamento che, se non è arrestato, passa da ultimo in rigidità, non è ancòra rigidità, e con questa non deve essere confuso. Esso corrisponde a un accorciamento tonico, a una contrattura, sebbene le contrazioni cloniche, provocate mentre esso procede, diventino d'altezza sempre minore. Ciò non ostante, finchè il processo che determina tale accorciamento è reversibile, esso compie, rispetto alla funzione clonica del muscolo striato, un uffizio analogo a quello che compie la contrattura iniziale: cioè, come dirò appresso, un uffizio di sostegno, in quanto che favorisce la capacità, già stremata, del muscolo di eseguire lavoro meccanico.

Ho detto che la contrattura iniziale è propria dei muscoli freschissimi o di quelli nei quali la funzione tonica è stata esaltata da speciali sostanze. La *contrattura terminale*, invece (quella cioè che, se il muscolo non è messo in condizioni da restaurarsi, passa, indistintamente, in rigidità), è caratteristica della fatica, quando non sia provocata sperimentalmente dall'azione intensa e prolungata delle sostanze contratturanti sopra menzionate. Una *contrattura terminale*, passante più o meno

velocemente in rigidità, provoca anche il riscaldamento del preparato muscolare, oltre la massima temperatura compatibile con la sopravvivenza; ma a temperature più basse, sebbene sempre superiori a quelle del corpo, il muscolo presenta un netto fenomeno di contrattura, cioè di accorciamento tonico, reversibile, che cioè si può risolvere perfettamente.

Di tutte le condizioni fisiche e sostanze chimiche capaci di provocare nei muscoli striati i fenomeni di contrattura e di rigidità, può dirsi che esse, a dose piccola, provocano solamente il primo, a dose forte il secondo, o, meglio, l'uno e l'altro fusi in un solo processo di accorciamento, che è, all'inizio accorciamento tonico, e poi rigidità. Così si comportano gli acidi; così la veratrina, il cloroformio ecc. Ma in alcuni casi, sotto l'influenza di una stessa dose, probabilmente media, si possono osservare i due fenomini insieme, in due periodi successivi: prima l'accorciamento tonico transitorio; più tardi l'accorciamento terminale.

Fenomeni clonici o accompagnano le contratture spontanee o provocate, in forma di contrazioni ritmiche automatiche; o possono essere provocati con stimoli elettrici durante le medesime. Le contrazioni ritmiche, per lo più poco frequenti ma di altezza variabile, possono accompagnare tutte le forme di contrattura provocata sopra descritte (da acidi, da veratrina e da nicotina, da passaggio della corrente costante ecc.), e altre osservate da altri autori (per es., la contrattura provocata da soluzioni $^1/_4$ n e $^1/_2$ n di CNSNa, secondo le ricerche di E. Rossi). La causa che determina l'accorciamento tonico durevole del muscolo, vi genera anche contrazioni ritmiche rapide.

Mentre un muscolo compie una contrattura provocata da alcuni degli agenti sopra nominati, se lo si stimola a intervalli irregolari piuttosto lunghi, o con stimoli ritmici di piccola frequenza, occorre spesso di osservare che le contrazioni, da tali stimoli provocate, sono o assolutamente o relativamente più alte di quelle che stimoli della stessa intensità sono capaci di provocare nello stesso muscolo prima o dopo la contrattura. Per « relativamente più alte » intendo significare quelle contrazioni rapide che sono più alte se ad esse si aggiunge l'altezza dell'accorciamento tonico già raggiunto dal muscolo al momento in cui le dette contrazioni sono eseguite; per « assolutamente più alte » intendo significare quelle che sono più alte anche senza contare l'accorciamento tonico del muscolo. Il fenomeno ora detto si osserva con maggiore evidenza nelle contratture spontanee, e in quelle provocate dagli acidi cloridrico, lattico ecc., dalla NaOH, e specialmente dalla veratrina. Se il muscolo è stimolato ritmicamente con una certa frequenza, l'aumento dell'altezza delle contrazioni rapide provocate durante la contrattura può anche non presentarsi affatto o essere estremamente transitorio. Per ottenerlo, è necessario evitare ogni fenomeno di fatica, cioè stimolare il muscolo a intervalli relativamente grandi. Vuol dire, dunque, che le condizioni fisiche e le sostanze chimiche che esaltano la funzione tonica dei muscoli striati o provocano addirittura una contrattura attuale, ne esaltano anche, entro certi limiti di tempo e d'intensità della rispettiva azione esteriore, la funzione clonica, cioè la rapida contrattilità; ossia, in un certo periodo, mentre si svolge la contrattura, le contrazioni rapide, provocate con stimoli elettrici unici di intensità conveniente, sono più gagliarde, più alte delle contrazioni ordinarie. È da considerarsi però come erronea l'ipotesi che le condizioni fisiche e le sostanze chi-

miche capaci di esaltare così la funzione contrattile tonica come la funzione clonica, producano tale effetto perchè mettono le sostanze proteiche muscolari in condizioni di più facile precipitabilità colloidale, ossia accentuano in esse la proprietà di fiocchificarsi. Da tutto ciò risulta che l'accorciamento tonico, nelle condizioni dette, anzichè ostacolare, agevola, favorisce l'attività clonica del muscolo striato. Alcuni dei tracciati, che presentano il fenomeno sopra detto, richiamano alla memoria le curve delle « contrazioni muscolari con sostenimento » descritte dal von Frey. Potrebbesi quindi dire che l'accorciamento tonico progressivo del muscolo striato, provocato da una delle sostanze sopra dette, opera alla stessa guisa del sostenimento esterno artificiale offerto al muscolo dal von Frey; opera cioè come sostenimento interno alle contrazioni rapide, le quali perciò si elevano ad altezze superiori alle ordinarie. Naturalmente, se il muscolo non si trova o non è messo in condizione da eseguire l'accorciamento tonico (o se, pur eseguendolo, la sua funzione clonica è in qualche modo alterata, depressa), l'aumento dell'altezza delle contrazioni cloniche durante la contrattura può non verificarsi, o essere piccolo e di brevissima durata. A questo proposito, non si possono stabilire regole fisse, circa la più opportuna dose di sostanza contratturante da somministrare, l'effetto dipendendo, principalmente a riguardo dei muscoli degli animali omeotermi, da quella che potrebbe dirsi disposizione del muscolo all'accorciamento tonico, la quale è variabile.

I muscoli striati, dunque, presentano in condizioni normali due ordini di fenomeni: fenomeni tonici e clonici; gli uni e gli altri possono distinguersi in spontanei o automatici, e provocati da stimoli esteriori. Fenomeni tonici spontanei e provocati riscontriamo di preferenza nei muscoli lisci, ma anche nei muscoli striati embrionali, e perfino nei muscoli striati prevalentemente rossi degli animali adulti (contratture spontanee e provocate iniziali); fenomeni clonici (contrazioni rapide) spontanei riscontriamo di preferenza nel cuore, ma anche nei muscoli lisci, come dimostro in altro lavoro, e nei muscoli striati (contrazioni ritmiche spontanee iniziali); ma i fenomeni clonici provocati da stimoli esteriori (artificiali o naturali) raggiungono il massimo grado di sviluppo nei muscoli striati degli animali adulti.

Le attività tonica e clonica, dunque, sono, è vero, diversamente ripartite nelle tre specie di tessuto muscolare dei vertebrati (per non parlar che di questi); ma non fanno del tutto difetto, nemmeno in condizioni fisiologiche (propriamente, di sopravvivenza del tessuto, per quanto riguarda i nostri esperimenti), a nessuna delle tre specie di muscoli. E se riescirò a dimostrare che appunto nel fenomeno motorio fisiologico per eccellenza dei muscoli striati, cioè nel tetano (fisiologico o sperimentalmente provocato), interviene come fattore essenziale di esso l'attività tonica, mentre è meno facile metterla in evidenza nel fenomeno della contrazione singola, io avrò dato la piena dimostrazione della importanza che alla detta attività tonica spetta nella funzione muscolare.

Come è agevole intendere, l'attività tonica di cui parlo è di natura periferica, cioè muscolare; è una proprietà del tessuto muscolare. Ma anche quella, nota col nome di tono centrale « o riflesso » dei muscoli, è muscolare, quanto al luogo in cui si genera; e se la si dice riflessa o centrale, è perchè con ciò s'intende significare che è provocata, nei muscoli *in situ*, da una tenue corrente di blandi impulsi nervei

riflessi dai centri spinali ed encefalici sui muscoli scheletrici. Similmente, il tono degli organi muscolari lisci, in quanto è fenomeno motorio o contrattorio, è proprietà degli elementi contrattili. Ma, come il tono centrale dei muscoli scheletrici, è verosimile che sia anch'esso provocato e intrattenuto da impulsi nervei riflessi. Contrariamente al primo, però, il tono degli organi muscolari lisci, depresso o abolito dopo il taglio dei rispettivi nervi efferenti, in breve tempo si ristabilisce; e non solo in quegli organi nei quali, come nel tubo digerente, è dimostrata l'esistenza di un plesso gangliare locale, ma anche in quelli nei quali, come nella parete arteriosa e nel muscolo retrattore delle pene, è ormai, o certo come nel primo caso, o verosimile come nel secondo, che non esistono cellule nervose sulle reti delle fibre nervee. In questi organi, però, persiste la specifica ricettività delle giunzioni neuro-muscolari, dopo la degenerazione delle terminazioni nervee, per gli ormoni simpatomimetici, ed è quindi probabile che il ristabilirsi del tono avvenga sotto l'influenza di tali ormoni.

Da quanto ho detto risulta che, in determinate condizioni, un muscolo striato è capace di reagire come un muscolo liscio, presentando cioè un accorciamento lento e durevole aggiunto a un accorciamento rapido, o sul quale si elevano contrazioni rapide più o meno intense, o finalmente un puro accorciamento tonico. Non è vero, quindi, che il muscolo striato sia capace di eseguire sole contrazioni rapide, uniche o sovrapposte a formare il tetano. Al muscolo striato spetta anche la funzione tonica; ossia il muscolo striato è dotato di duplice funzione motoria: clonica e tonica.

Ma io sono riuscito a dimostrare (*), ancora, che anche il muscolo liscio è dotato di duplice funzione motoria: clonica e tonica; sono riescito, cioè, a dissociare in esso le due funzioni, come a suo luogo si vedrà. Le due specie di muscoli, quindi, non differiscono fra loro se non per questo: che nei muscoli striati prevale la funzione tonica, mentre nei lisci prevale la funzione tonica.

In quest'ultimo decennio l'attenzione di alcuni fisiologi, specialmente inglesi, è stata rivolta, in modo particolare, alle proprietà fisiologiche delle giunzioni neuro-muscolari. Io non ho tralasciato di raccogliere, durante le mie ricerche sul preparato frenico-diaframmatico, dati, che mi sembrano non privi d'importanza, riguardanti lo stesso argomento. Dopo avere esposto nel I capitolo le notizie storiche che sul significato funzionale delle giunzioni neuro-muscolari possediamo, riassumo qui brevemente le conclusioni alle quali mi hanno condotto i resultati sperimentali degli autori sopra citati, e quelli ottenuti da me stesso.

Nel preparato neuro-muscolare non è dimostrata una reciprocità di conduzione degli eccitamenti fra nervo e muscolo. In verità, è oltremodo difficile dimostrare che gli eccitamenti provocati primariamente nel muscolo si propagano o non si propagano al nervo, perchè il muscolo contiene propri organi ricettori, ai quali fanno capo fibre nervose afferenti che esistono in ogni nervo motore; e quindi, se una variazione elettrica fosse scoperta in questo nervo in conseguenza di stimoli applicati alle regioni aneurali del muscolo, potrebbe obiettarsi che essa è data dalle fibre afferenti. Comunque sia, credo che ricerche speciali in questo senso non siano state ancora fatte. L'in

(*) Ved. la mia seconda Memoria, di prossima pubblicazione in queste Memorie della R. Accad. dei Lincei, la quale tratta esclusivamente della Fisiologia dei Muscoli lisci.

tensità della variazione elettrica potrebbe, del resto, fornire elementi di giudizio a questo proposito.

Gl'impulsi nervei incontrano una particolare resistenza nel propagarsi dal nervo al muscolo. A questa resistenza sono dovuti il maggior periodo di latenza che presenta la contrazione muscolare provocata con stimoli indiretti in confronto con quella provocata direttamente, e, come recentemente ha dimostrato K. Lucas, il così detto « fenomeno di Wedensky » (anche nella forma semplice nella quale Lucas l'ha determinato), il « tetano iniziale » di Hofmann, e alcune forme d'inibizione causate dalla fatica e da veleni.

Spesso, in certe condizioni, gli stimoli unici applicati al nervo provocano nel muscolo una contrazione o prolungata o ritmica, che somiglia molto alle reazioni motorie riflesse; e non sempre può constatarsi normale proporzione fra l'intensità dello stimolo e l'intensità della contrazione, per cui gli stessi stimoli in alcuni casi provocano contrazioni fortissime, superiori a quelle che sono capaci di provocare gli stimoli massimali applicati direttamente al muscolo.

Frequentemente, gli stimoli indiretti determinano, oltre alle abituali contrazioni cloniche, un accorciamento tonico durevole del muscolo, cioè una contrattura, ovvero contrazioni rapide più prolungate (cioè accompagnate da contrazione tonica) di quelle che son determinate dagli stimoli diretti. Talora, quando gli stimoli indiretti sono di una certa forza e frequenza, possono provocare una più o meno cospicua contrattura del muscolo, accompagnata o no da scosse fibrillari ritmiche. Stimoli di questa specie, nascenti nel nervo tagliato, per chiusura della sua propria corrente di demarcazione, sono probabilmente la causa della contrattura iniziale e delle contrazioni ritmiche, dette spontanee, del preparato frenico-diaframmatico.

È noto che la fatica del preparato neuro-muscolare, eccitato con stimoli indiretti, non è propriamente fatica nè del muscolo nè del nervo, ma bensì delle giunzioni neuro-muscolari; e talora il fenomeno è in parte reversibile: per es., il blocco che pone l'acido carbonico alla propagazione degli eccitamenti dal nervo al muscolo, in parte sparisce quando si rimette il preparato in un'atmosfera di ossigeno.

Nel preparato neuro-muscolare si osservano fenomeni di agevolazione, d'inibizione apparente, di addizione degli eccitamenti (« fenomeno della scala », aumento o diminuzione apparente della eccitabilità ecc.), assai più cospicui che non nel nervo o nel muscolo, e che sono perciò imputabili alle giunzioni neuro-muscolari.

Queste sono dotate di proprietà elettive specifiche per i veleni (e per gli ormoni). Il curaro agisce su esse; la nicotina blocca gli eccitamenti tanto nelle giunzioni neuro-muscolari quanto nelle sinapsi dei gangli simpatici; la veratrina, prima esalta e poi deprime e abolisce la conduttività neuro-muscolare. (Probabilmente, la stricnina esercita la sua influenza caratteristica sui riflessi spinali, agendo sulle sinapsi delle vie afferenti).

Per gli stimoli elettrici, oltre che per l'azione dei veleni, e forse anche per quella di stimoli d'altra natura, la regione neurale del muscolo presenta un'eccitabilità maggiore di quella del nervo e del muscolo, tanto che Lucas è stato indotto ad ammettere, nel preparato neuro-muscolare, l'esistenza di almeno tre sostanze eccitabili diverse (o sostanze ricettive, o radicali ricettori, come si esprimerebbe Langley),

delle quali la maggiormente eccitabile sarebbe localizzata nelle giunzioni neuro-muscolari.

Dalla proprietà delle giunzioni neuro-muscolari, di addizionare eccitamenti relativamente deboli giungenti ai muscoli per via riflessa, si può ammettere che siano determinati tanto il tono normale dei muscoli striati, quanto i fenomeni tonici in questa Memoria descritti.

Come si vede, dunque, i preparati neuro-muscolari presentano alcune proprietà, che sono analoghe ad altre da gran tempo riconosciute ai centri nervosi; e si ha ragione di credere che, come queste sono da attribuirsi, almeno in parte, alle sinapsi, cioè alle giunzioni neuro-neurali o interneuroniche, così quelle dipendono dalle giunzioni neuro-muscolari.

È impressionante il fatto — risultante concordemente da esperimenti eseguiti su muscoli di animali pecilotermi ed omeotermi, su muscoli *in situ* e separati dal corpo, cioè sopravviventi — che, in condizioni diverse e sotto l'influenza di sostanze chimiche di natura differentissima, il muscolo striato manifesta in forma quasi identica la sua attività tonica. È impossibile, perciò, sfuggire alla conseguenza che logicamente ne scaturisce: che cioè la detta attività debba, in vario grado, spettare a un costituente comune a tutte le specie di fibre muscolari, il quale reagisce in modo analogo, sebbene quantitativamente diverso, alle più svariate azioni esteriori capaci di suscitare in esso uno stato di eccitamento; e che, quindi, la funzione tonica sia un fattore essenziale della normale attività dei muscoli striati.

Dagli stessi esperimenti risulta (con eguale evidenza, mi sembra) che la distinzione fra attività tonica e clonica del tessuto muscolare striato non è un artifizio, ma corrisponde alla realtà. Noi possiamo infatti, utilizzando quei sottili accorgimenti tecnici che il metodo sperimentale insegna, dissociare le due attività muscolari, provocare una semplice contrazione tonica o una semplice contrazione clonica, una contrattura scevra di contrazioni rapide o una serie di queste senza traccia di contrattura; e possiamo anche simultaneamente esaltare le due proprietà funzionali, o esaltarne una e deprimere l'altra, a volontà, e sempre senza arrecare ai muscoli alterazioni irreversibili. Ora questa dissociazione sperimentale, che noi possiamo fare, non corrisponde nella realtà, e nemmeno nel nostro pensiero, a una assoluta indipendenza delle due funzioni in condizioni naturali. Anzi, queste che noi dissociamo per esigenze indagative, in natura trovansi in intima correlazione, ed è nostro còmpito urgente di mettere in chiaro quale è l'effetto utile fisiologico della mutua dipendenza o correlazione fra le due funzioni: vale a dire, specificando ed esprimendomi in termini teleologici, a che serve la funzione tonica particolarmente nei muscoli striati, e quale uffizio ad essa spetti nella loro normale attività.

A questo scopo tendevano le presenti ricerche; e questo uffizio voglio ora provarmi a definire, per quanto mi è consentito dallo stato delle nostre odierne conoscenze. Io credo che l'accorciamen totonico compia un uffizio di risparmio, nei periodi di normale eccitabilità muscolare; e in parte sostituisca la funzione clonica, nello stato di fatica.

I muscoli striati servono, non solamente ad eseguire lavoro meccanico, cioè a sollevare pesi a diverse altezze, mediante le loro rapide contrazioni tetaniche: ad eseguire quello che alcuni hanno chiamato *lavoro balistico*; ma anche a compiere quello che fu detto *lavoro statico*. Nel primo caso, i muscoli compiono brevi tetani, nei quali l'importanza maggiore va attribuita alla sovrapposizione di forti e rapide contrazioni cloniche; nel secondo, compiono accorciamenti durevoli, spesso di lunga durata, come quando tengono sollevato un peso per molto tempo o resistono a una forza contraria, nei quali l'importanza maggiore spetta alla funzione tonica. Come da questa forma funzionale non è esclusa, per altro, l'attività clonica, così dalla prima non è esclusa l'attività tonica.

Poichè l'attività tonica è sviluppata più nei muscoli lisci che non negli striati, là dove, come nel meccanismo di chiusura durevole delle valve dell'*Anodonta*, si esige un lavoro statico prolungato, di cui i muscoli striati non sono capaci, vediamo apparire una duplice muscolatura, liscia e striata. In altri casi, gli stessi muscoli striati presentano in modo speciale sviluppata l'attività tonica, come si vede nei muscoli rossi di alcuni animali o di alcune parti del corpo.

Se, durante le contratture, contrazioni rapide relativamente meno alte possono sollevare un peso alla stessa altezza alla quale lo sollevano le contrazioni più alte partenti dall'ascissa normale; e se, come in questi ultimi anni è stato dimostrato, è specialmente durante la funzione clonica che il muscolo consuma maggior quantità d'energia chimica e più ossigeno, e produce maggior quantità di calore e di acido carbonico, è evidente che, diminuendo l'altezza delle contrazioni cloniche durante la contrattura, il muscolo consuma minor quantità d'energia producendo lo stesso effetto meccanico, o un effetto meccanico maggiore quando le contrazioni cloniche, elevantisi dall'altipiano della curva contratturale, si approssimano alle altezze del tetano, succedendosi però, nell'unità di tempo, in numero minore che non nel tetano ordinario.

Io ho dimostrato che il muscolo veratrinizzato esige un numero di stimoli minore per eseguire un tetano completo; e lo stesso può dirsi di un muscolo che lavora in un ambiente ricco di acido carbonico (von Lhota), o sottoposto all'azione dell'acido lattico ecc. Ciò dipende dal fatto che, nelle dette condizioni, nel muscolo viene ad esaltarsi l'attività tonica. È chiaro, quindi, che nel lavoro prolungato, quando incominciano a manifestarsi i fenomeni della fatica, l'accorciamento tonico, che allora si manifesta, favorisce il lavoro muscolare effettuando un risparmio d'energia chimica.

È verosimile che le due proprietà dei muscoli, di cui mi lusingo di avere dimostrato, con queste ricerche e più ancòra con quelle che saranno prossimamente pubblicate, la dissociabilità sperimentale e la normale dipendenza funzionale, siano localizzate in due costituenti diversi di ciascuna fibra muscolare.

Fin dal 1897, io formulai l'ipotesi che tali costituenti fossero le miofibrille e il mioplasma: le miofibrille compirebbero la contrazione clonica, il mioplasma (sarcoplasma) la contrazione tonica; questo sarebbe lo strumento dell'attività tonica dei muscoli, in generale, cioè in qualsiasi forma essa si manifesti, vuoi come contrazione tonica nella rapida contrazione doppia, vuoi come contrattura dei muscoli

striati. Con questa ipotesi io spiego una quantità di fenomeni di fisiologia muscolare, dall' « accorciamento residuale » della così detta « contrazione semplice », a quello, più cospicuo, della contrattura o del tetano. Questa ipotesi, conosciuta anche col nome di « teoria del sarcoplasma », è stata accettata da parecchi fisiologi e benevolmente presa in considerazione da altri. Niun fatto è stato finora additato, che si opponga alla teoria o che questa non sia in grado di spiegare. Molti fatti, invece, rimangono inesplicabili secondo la teoria classica dell'unico costituente contrattile della fibra muscolare striata, corrispondente alla miofibrilla. Ora, nella lotta fra due teorie, la vittoria deve essere provvisoriamente riconosciuta a quella che è più generale, che cioè rende conto del maggior numero di fatti sperimentalmente accertati, finchè l'una e l'altra non debbano cedere il campo a una teoria nuova, ancòra più generale e più comprensiva. In materia di teorie biologiche, non bisogna mai dimenticare « that certainty is not the *presupposition* of scientific inquiry but its (distant) aim, and that no matter how much confirmation a scientific theory acquires it can never becom *absolutely* certain » (*).

La teoria della funzione contrattile (tonica) del sarcoplasma deve anche essere esaminata e discussa in confronto con le teorie, oggi dominanti, sulla contrazione muscolare in generale, e in particolare con quelle della « tensione superficiale » e della « imbibizione ». Da tale confronto, che farò a suo tempo, risulterà se sulla base della teoria della tensione superficiale, piuttosto che su quella della imbibizione, o viceversa, potrà essere fondata una soddisfacente spiegazione della contrattilità del sarcoplasma.

(*) F. C. S. Schiller, *The logic of science.* Science Progress, n. 31, pag. 398, an. 1914.